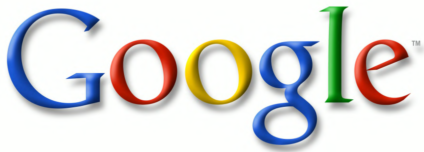





SEAL OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LET THERE BE LIGHT
1868

Koch's Jahresbericht

Vierter Jahrgang

1893

JAHRESBERICHT

über die Fortschritte in der Lehre von den

GÄHRUNGS-ORGANISMEN

VON

Professor Dr. ALFRED KOCH

Lehrer an der Grossherzogl. Obst- und Weinbauschule zu Oppenheim

---

VIERTER JAHRGANG

1893

BRAUNSCHWEIG

HARALD BRUHN

Verlagsbuchhandlung für Naturwissenschaft und Medicin

1894

Vorwort.

Auch den vorliegenden vierten Jahrgang dieses Berichtes begleitet mein Wunsch, er möge den Fortschritt in Wissenschaft und Praxis fördern helfen.

Allen den Herren, die mir in diesem Jahre meine Arbeit durch freundliche Einsendung ihrer Schriften erleichterten, spreche ich meinen herzlichsten Dank aus und bitte sie auch in der Folge ihr Interesse für meinen Jahresbericht nicht erkalten zu lassen.

Privatim und in Rezensionen ist mir mehrfach der Wunsch zu erkennen gegeben worden, dass dieser Bericht früher erscheinen möge; ich brauche wohl kaum hervorzuheben, dass ich diesen Wunsch nur lebhaft theilen kann. An alle Autoren, die auf den in diesem Jahresberichte behandelten Gebieten thätig sind, richte ich daher immer wieder von Neuem die Bitte, mich durch Einsendung ihrer Arbeiten zu unterstützen. Da von der Erfüllung dieser Bitte die Möglichkeit des pünktlichen Erscheinens dieses Berichtes ganz wesentlich abhängt, darf ich wohl die Herren, welche meinen Jahresbericht rezensiren, freundlichst bitten, meinen Wunsch in ihren Besprechungen zu erwähnen, um denselben allgemein bekannt zu machen.

Neuerdings ist mir der gewiss sehr praktische Vorschlag gemacht worden, ich möchte die Adressen der Autoren in meinem Jahresberichte mittheilen, damit man sich bei Bearbeitung einer Spezialfrage mit den Herren, welche auf demselben Gebiet thätig waren, in Verbindung setzen könne. Ich bin überzeugt, dass durch eine Zusammenstellung solcher Adressen Manchem ein Dienst erwiesen wird und bin daher gern bereit vom nächsten Jahrgange ab ein Verzeichniss der eingesandten Adressen mitzutheilen, falls mir eine genügende Anzahl derselben übermittelt wird.

Sendungen an mich sind vom 1. Januar 1895 ab zu richten nach Oppenheim am Rhein, Grossherzogliche Obst- und Weinbauschule.

Geisenheim am Rhein, im November 1894.

Der Verfasser.

Inhalt

I. Lehrbücher, zusammenfassende Darstellungen etc.

[Am Schlusse jedes Titels ist in ( ) die Seite angegeben, auf welcher sich das betreffende Referat findet.]

1. **André, G.,** Les microbes du tube digestif (Midi méd. 1892, p. 373).
2. **Ball, M. V.,** Essentials of bacteriology, being a concise and systematic introduction to study of micro-organisms. 2. ed. Illustr. Philadelphia 1893, Saunders.
3. **Béchamp, A.,** Microzymas et Microbes. Communications à l'académie de médecine dans les discussions sur l'aigrissement et la coagulation spontanés du lait de vache, la septicémie puerpérale, la pleurésie, l'albuminurie. 2. éd. rev. et corr. 18^0. 38 et 353 pp. Paris, Dentu.
4. **Becker,** Ueber die allgemeinen Beziehungen der Chemie zur Bakteriologie (Zeitschr. f. angewandte Chemie 1893 p. 420). — (S. 3)
5. **Blum, F.,** Ueber chemisch nachweisbare Lebensprozesse an Mikroorganismen (Bericht der Senckenberg'schen naturforschenden Gesellschaft in Frankfurt a./M. 1893, p. 235). — (S. 3)
6. **Bourquelot, E.,** Les fermentations. Paris. Société d'éditions scientifiques. 8^0. 208 p. Avec 21 fig. intercalées dans le texte [Encyclopédie des connaissances pratiques t. II]. — (S. 3)
7. **Frankland, P. F.,** Beiträge zur Chemie und Bakteriologie der industriellen Gährungsprozesse (Phil. Transactions vol. LII, 1893, no. 1181).
8. **Frankland, P. F.,** Bacteriology in its Relations to Chemical Science [Reed at the Meeting of the British Association September 1893]. — (S. 3)
9. **Freudenreich, E. v.,** Die Bakteriologie in der Milchwirthschaft. Kurzer Grundriss zum Gebrauch für Molkereischüler, Käser und Landwirthe 8^0. 78 pp. Basel 1893, Sallmann. — (S. 3)
10. **Griffiths, A. B.,** A manual of bacteriology [Heinemann's scientific handbooks] 362 pp. London 1893, Heinemann.
11. **Günther, Carl,** Einführung in das Studium der Bakteriologie mit

besonderer Berücksichtigung der mikroskopischen Technik. 3. verm. Aufl. VIII u. 376 pp. 12 Tfln. 8⁰. Leipzig 1893, Thieme.

12. **Hueppe, F.,** Ueber die Ursachen der Gährungen und Infektionskrankheiten und deren Beziehungen zum Kausalproblem und zur Energetik [Vortrag gehalten in der 3. allgemeinen Sitzung der 65. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte zu Nürnberg am 15. September 1893] (Berliner klin. Wochenschr. 1893 p. 909). — (S. 4)

13. **Johne, A.,** Bakteriologisch-mikroskopische Vorschriften I-X. 12 Bl. Dresden 1893, Pässler.

14. **Kenwood, H. R.,** Public health laboratory work, including methods employed in bacteriological research with special reference to the examination of air, water and food. Illustr. London 1893, King. —

15. **McLaughlin, J. W.,** Fermentation, infection and immunity; a new theory of these processes which unifies their primary causation and places the explanation of their phenomena in chemistry, biology and the dynamics of molecular physics. 240 pp. Austin, Texas 1892, J. W. McLaughlin.

16. **Lermuseau,** Vade-mecum de technique bactériologique indispensable aux commençants. Bruxelles 1892, Lamertin.

17. **Macé, E.,** Traité pratique de bactériologie. 2. éd. revue et augmentée. Avec 201 fig. dans le texte noires et colorées. Paris 1892, Baillière et fils. — (S. 4)

18. **Marchal, E.,** Physiologie végétale. Les microbes bienfaisants. Resumé de deux conférences faites à la société royale linnéenne de Bruxelles. 16⁰. 28 pp. Bruxelles 1893, Weissenbruch.

19. **Messea, A.,** Della necessità di usare in batteriologia la nomenclatura adottata nelle scienze naturali per la denominazione degli esseri organizzati. (Rivista d'igiene e san. pubbl. 1893 p. 16).

20. **Migula, W.,** An Introduction to Practical Bacteriology for Physicians, Chemists and Students. Translated by M. Campbell. 8⁰. 234, p. with 9 Illustr. in the text and 2 plates. London, Sonnenschein & Cie.

21. **Schenk, S. H.,** Manual of Bacteriology for Practitioners and Students: with Special Reference to Practical Methods: from the German with an Appendix by W. R. Dawson M. D. 8. 224 pp. New York 1893. Longmans, Green & Cie.

22. **Schrank, J.,** Anleitung zur Ausführung bakteriologischer Untersuchungen zum Gebrauche für Aerzte, Thierärzte, Nahrungsmittel-, Agrikultur- und Gährungschemiker, Apotheker und Bautechniker. 265 pp. 137 Abb. Wien 1893, Deuticke.

23. **Schutzenberger, P.,** Les fermentations. 8⁰. Avec grav. 5. éd. Paris 1892, Alcan.

24. **Sizer, N. B.,** Los microbios en las enfermedades. (Rev. méd.-quir. amer. 1893 p. 137).
25. **Sternberg, G. M.,** A manual of bacteriology. XII and 886 pp. Illustr. New York 1893, Wood & Cie.

Becker (4) bespricht in einem Vortrage den wechselseitigen Nutzen, den Chemie und Bakteriologie aus einander ziehen können und erinnert an einige praktisch hervorragend werthvolle Gebiete besonders der nicht medizinischen Bakteriologie, ohne Neues zu bieten.

Blum (5) stellt in diesem Vortrag die chemischen Einwirkungen der niederen Organismen auf das Substrat zusammen. Der prinzipielle Unterschied zwischen Gährung und Fermentwirkung ist dem Verf. nicht klar geworden, da er z. B. sagt, die Bierhefe besitze sowohl ein invertirendes wie ein alkoholisches Ferment.

Bourquelot (6) hat hier die historische Einleitung und das Kapitel über die löslichen und die organisirten Fermente aus seinem Buche: Les fermentations (Paris 1889) wieder abdrucken lassen; in Bezug auf Nitrifikation sind die Arbeiten von Winogradsky und Warington nachgetragen. (Chemikerztg.)

Frankland (8) giebt hier eine Zusammenstellung praktisch und wissenschaftlich besonders wichtiger oder interessanter Begebenheiten auf dem Gebiete der Bakteriologie.

Freudenreich (9) will durch das vorliegende Buch in erster Linie Käsern und Molkereitechnikern, dann aber auch Landwirthen einen allgemeinen Begriff von der Bakteriologie geben, einer Wissenschaft, die ja auf die milchwirthschaftliche Praxis von umgestaltendem Einfluss gewesen ist. Er giebt zu dem Zwecke erst in einem allgemeinen Theil eine knappe Darstellung der Morphologie und Physiologie der Bakterien, der Methoden der Bakteriologie und beschreibt kurz noch einige andere häufige Mikroorganismen Hefen und Schimmelpilze. Im speziellen Theile wird dann das Gebiet der eigentlichen Milchbakteriologie, auf dem Verf. ja selbst mit bekanntem Erfolg thätig war, eingehender besprochen und zwar die Bakterien in der Milch und ihre Vermehrung in derselben, die in der Milch vorkommenden pathogenen und sonstigen Bakterien, die Beziehungen der Milchfehler zu den Futtermitteln, die Haltbarmachung der Milch und die zu befolgenden Regeln bei Auftreten von Milchkrankheiten behandelt.

Im Allgemeinen kann man sich mit der Art der Darstellung des Verf. auch in Bezug auf den allgemeinen Theil, das schwierigste Kapitel aller solcher Bücher, einverstanden erklären; nur wäre es nach Ansicht des Ref. praktisch gewesen, an den Anfang der Morphologie einen kurzen Hinweis darüber zu stellen, wie Bakterienansammlungen makroskopisch aussehen. In Bezug auf Einzelheiten sei noch bemerkt, dass bei der fraktio-

nirten Sterilisation doch nicht nur Temperaturen von 70° angewendet werden, dass Ref. die Vakuolen der Hefezellen nicht als Hohlräume erklärt hätte und dass er nicht finden kann, dass durch Färben der Bakterien „morphologische Details“ leichter sichtbar werden; nur die äussere Form ist an gefärbten Bakterien leichter zu sehen. Schliesslich hätte Ref. es entschieden vorgezogen die Bakterien nicht als Fermente zu bezeichnen, denn so kommt es, dass in demselben Abschnitt von Bakterien, welche Labferment produziren und von einer Bakteriengruppe als Fermenten des Caseins die Rede ist. Dadurch muss im Kopfe des im Gebiete noch unbewanderten Lesers eine grosse Confusion entstehen.

Hueppe (12) giebt hier eine philosophische Betrachtung, auf die die Leser dieses Berichtes nur hingewiesen werden können.

Macé (17) wendet in diesem Lehrbuche folgende Eintheilung der Bakterien an:

Fam. I. Coccacées.

Gen. 1. Micrococcus, 2. Sarcina, 3. Ascococcus, 4. Leuconostoc.

Fam. II. Bactériacées.

Gen. 1. Bacillus, 2. Spirillum, 3. Leptothrix, 4. Clathodrix, 5. Actinomyces.

Fam. III. Beggiatoacées,

Gen. 1. Beggiatoa, 2. Crenothrix.

Die Bezeichnungen Streptococcus etc. will er streichen und nur Micrococcus anwenden. (Centralbl. f. Bakteriol.)

II. Arbeitsverfahren, Apparate etc.

26. **Acosta, E., y F. Grande Rossi,** Medios de cultivo. Nuovo procedimiento para preparar gelatina (Crónica médico-quirúrgica 1892, no. 14). — (S. 10)

27. **Atkinson, G. F.,** Photography as an instrument for recording the macroscopic characters of microorganisms in artificial cultures (Bull. of the Torrey Bot. Club vol. XX, 1893, p. 357). — (S. 37)

28. **Behrendsen,** Ein neuer Dampfsterilisator einfachster und billigster Konstruktion (Deutsche med. Wochenschr. 1893, no. 28). — (S. 34)

29. **Beneke,** Zur Methodik der Gelatinestichkultur (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 174). — (S. 15)

30. **Bourquelot** et **Galippe,** Sur la permeabilité des filtres en terre poreuse à l'égard des bactéries (Comptes rendus de la soc. de biol. 1893, p. 483). — (S. 29)

31. **Brunner, G., und A. Zawadzki,** Zählplatte zu den Petri'schen Schalen (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 616). — (S. 37)

32. **Dachnewsky, P. N.,** Eine vergleichende Untersuchung der Chamberland-Pasteur'schen und Berkefeld'schen Filter (Wratsch 1893, p. 543).

33. **Dehaitre, F.,** Désinfection, stérilisation. Renseignements pratiques sur les appareils et procédés. 32 Fig. 8⁰. Paris 1893, Jamati.

34. **Drossbach, P.,** Methode der bakteriologischen Wasseruntersuchung (Chemikerztg. 1893, 11. Oktober). — (S. 14)

35. **Drossbach, P.,** Plattenverfahren zur Reinkultur von Mikroorganismen auf flüssigen Nährböden (Centralbl. für Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 455). — (S. 13)

36. **Dzierzgowsky, S.,** Kilka słów o nowych filtrach domowych Berkefeld'a (Gaz. lekarska 1893, no. 17).

37. **Elion, H.,** Züchtung von Askosporen auf Thonwürfeln (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 749). — (S. 39)

38. **Erfahrungssätze über den Betrieb von Sandfiltern** (Journal f. Gasbeleuchtung Bd. XXXV, 1892, p. 710). — (S. 31)

39. **Fermi, C.,** Kleine Mittheilungen zur bakteriologischen Technik (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 613). — (S. 38)

40. **Fiocca, R.,** Ueber eine neue Methode der Sporenfärbung (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 8). — (S. 36)
41. **Frankland, Percy,** Reinigung des Wassers durch Sedimentirung (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 122). — (S. 25)
42. **Freudenreich, E. v.,** De la perméabilité des filtres CHAMBERLAND à l'égard des bactéries (Annales de micrographie 1893, p. 559) [Vgl. KOCH's Jahresbericht Bd. III, 1892, p. 19].
43. **Gautier, A.,** Rapport sur les travaux de M. GARROS relatifs à la porcelaine d'amiante (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, 1893, p. 964). — (S. 29)
44. **Griffiths, A. B.,** On a new method for the bacteriological examination of Water and on a new Bacillus discovered in rain-water (Proceedings of the Royal Society [London] vol. LII, 1892/93, p. 165 [Title only]; Chem. News vol. LXVII, 1893, p. 234). — (S. 15)
45. **Gruber, M.,** Gesichtspunkte für die Prüfung und Beurtheilung von Wasserfiltern (Centralbl. für Bacteriol. Bd. XIV, 1893, p. 488). — (S. 27)
46. **Guinochet,** Versuche mit dem CHAMBERLAND-Filter (Journal pharm. chim. (5) t. XXVIII, 1893, p. 484). — (S. 30)
47. **Hanause, H.,** Thermo-régulateur à air et à graduation simple, rapide et précise [Brevet 7. Mai 1892] (Bull. de l'Assoc. belge des chimistes t. VII, 1893, p. 242). — (S. 23)
48. **Heinzelmann,** Uebersicht über die Erfindungen auf dem Gebiete der Luftfiltration (Wochenschr. f. Brauerei 1893, no. 27). — (S. 33)
49. **Holten, K.,** Zur Reinkultivirung auf flüssigem Nährboden (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 752). — (S. 13)
50. **James, J. W.,** Ueber einen neuen Sicherheitsthermoregulator für bakteriologische Arbeiten (Journal of the Soc. of chem. Industry vol. XII, p. 225). — (S. 24)
51. **Julien, A.,** Suggestions in microscopical technique (Journal of the New-York microscopical Soc. vol. IX, 1893, no. 2). — (S. 38)
52. **Kirchner, M.,** Untersuchungen über die Brauchbarkeit der BERKEFELD-Filter aus gebrannter Infusorienerde (Zeitschr. f. Hygiene Bd. XIV, 1893, p. 299). — (S. 26)
53. **Kirchner, M.,** Ueber die Brauchbarkeit der BERKEFELD-Filter (Zeitschr. f. Hygiene Bd. XV, 1893, p. 179). — (S. 28)
54. **Kirchner, M.,** Gesichtspunkte für die Prüfung und Beurtheilung von Wasserfiltern [Entgegn. auf die gleichnamige Arbeit von Professor MAX GRUBER in Wien] (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 516). — (S. 28)
55. **Klein, E.,** Zur Kenntniss der Geisselfärbung des Choleravibrio (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 618). — (S. 36)

56. **Koch, R.,** Ueber Wasserfiltration und Cholera (Zeitschr. f. Hygiene Bd. XIV, 1893). — (S. 31)

57. **Koch, Alfred,** Ueber eine Wärmeregulirvorrichtung für Brutöfen und Paraffineinbettungsapparate bei beliebigem Heizmaterial (Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie Bd. X, 1893, p. 161). — (S. 21)

58. **Koch, Alfred,** Ueber Verschlüsse und Lüftungseinrichtungen für reine Kulturen (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 252). — (S. 16)

59. **Kröhnke,** Vorschläge zur Verbesserung und Sterilisation des Flusswassers auf chemischem Wege (Journal f. Gasbeleuchtung Bd. XXXVI, 1893, p. 513). — (S. 24)

60. **Kümmel, W.,** Einige die Filtration des Wassers betreffende Fragen (Journal f. Gasbeleuchtung Bd. XXXVI, 1893, p. 612). — (S. 33)

61. **Kümmel, W.,** Versuche und Beobachtungen über die Wirkung von Sandfiltern (Journal f. Gasbeleuchtung Bd. XXXVI, 1893, p. 161). — (S. 32)

62. **Lacour-Eymard,** Expériences sur le filtre CHAMBERLAND (Revue d'hygiène 1893 p. 486).

63. **Lafar, F.,** Neue Tropf- und Standgläser Patent TRAUBE-KATTENTIDT (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 228). — (S. 39)

64. **Lafar, F.,** Eine neue Zählvorrichtung für Plattenkulturen in PETRI-Schalen (Zeitschr. f. Nahrungsmittel-Unters., Hygiene u. Waarenkunde Jahrg. VII, 1893, 24. Dezbr). — (S. 37)

65. **Landois, L.,** Brütapparat mit selbstthätiger Regulirung eines konstanten Temperaturgrades ohne Anwendung von Gas und Elektrizität (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 256). — (S. 21)

66. **Lickfett,** Das KOCH'sche Plattenverfahren auf das Deckglas übertragen (Deutsche med. Wochenschr. 1892 p. 1025). — (S. 13)

67. **Lindner, P.,** Bemerkung zum MOELLER'schen Filter (Wochenschr. f. Brauerei 1893, no. 29). — (S. 33)

68. **Lindner, P.,** Die Einzellkultur im hängenden Tropfen. Gealterte Zellen in frischer Würze. Abnormale Zellformen und Querwandbildungen bei Betriebshefen (Wochenschr. f. Brauerei 1893, no. 51). — (S. 13)

69. **Marchal, E.,** Sur un nouveau milieu de culture (Bull. de la soc. belge de microscopie t. XIX, 1893, p. 64). — (S. 13)

70. **Marchal, E.,** Sur un procédé de stérilisation à cent degrés des solutions d'albumine (Bull. de l'Acad. de Méd. de Belgique t. XXIV, no. 9/10). — (S. 34)

71. **Miquel, P.,** Du pouvoir stérilisant des filtres en biscuit (Annales de Microgr. t. V, 1893, p. 138). — (S. 28)

72. **Miquel, P.,** Sur la possibilité de retarder considérablement la propa-

gation des bactéries à travers les filtres en biscuit (Annales de Microgr. t. V, 1893, p. 185). — (S. 29)

73. **Nastükow, M.,** Eigelb als Nährstoff für Bakterien (Wratsch 1893, p. 912).

74. **Nicolle, M., et V. Morax,** Technique de la coloration des cils; cils des vibrions cholériques et des organismes voisins; cils du bacille typhique et du bacille coli (Annales de l'Inst. Pasteur t. VII, 1893, p. 554). — (S. 35)

75. **Novy, F. G.,** Die Cultur anaërober Bakterien (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 581). — (S. 18)

76. **Pannwitz,** Ein neuer bakteriendichter, selbstthätiger, selbstkontrollirender Gefässverschluss für Sterilisirungszwecke (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 754). — (S. 17)

77. **Parascandole, C.,** Sul valore dell'albume d'uovo quale terreno di coltura dei microorganismi (La Riforma med. 1893 p. 101). — (S. 13)

78. **Pukall, W.,** Ueber Thonfilter, ihre Eigenschaften und ihre Verwendung in chemischen und bakteriologischen Laboratorien (Bericht d. chem. Gesellschaft Bd. XXVI p. 1159). — (S. 30)

79. **Roth, O.,** Ueber ein einfaches Verfahren der Anaërobenzüchtung (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 223). — (S. 19)

80. **Sabrazès, J., et E. Bazin,** L'acide carbonique à haute pression, peut-il être considerée comme un antiseptique puissant? (Comptes rendus de la soc. de biol. 1893, p. 909). — (S. 34)

81. **Sanfelice, F.,** Untersuchungen über anaërobe Mikroorganismen (Zeitschr. f. Hygiene Bd. XIV, 1893, p. 339). — (S. 20)

82. **Schepilewsky, A.,** Ein Regulator zum Thermostaten mit Wasserheizung (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 131). — (S. 20)

83. **Schultz, L.,** A rapid method of making nutrient agar-agar (Pathol. Laboratory of the John Hopkins' Hospital and University). — (S. 9)

84. **Schweinitz, E. A. v.,** Kulturmedien für biochemische Untersuchungen (The New York medical Journal 1893). — (S. 12)

85. **Sclavo, A.,** Sur un procédé rapide pour colorer les cils de quelques microorganismes (Direction de la Santé. Rome 1892). — (S. 35)

86. **Smith, Th.,** The fermentation tube with special reference to anaërobiosis and gas-production among bacteria (The wilder Quarter-Century Book 1893, p. 187). — (S. 15)

87. **Straus,** Sur un procédé de coloration à l'état vivant des cils de certaines bactéries mobiles (Bull. méd. 1892, no. 51). — (S. 34)

88. **Tanret,** Sur la stabilité à l'air de la solution de sublimé corrosif au millième (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, 1893, p. 1081). — (S. 39)

89. Teich, M., Das Verfahren von Babes zur Gewinnung von keimfreiem Wasser (Archiv f. Hygiene Bd. XIX, 1893, p. 62). — (S. 24)

90. Timpe, H., Ueber den Einfluss der Eiweisskörper auf die Reaktion der Nährböden (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 845). — (S. 10)

91. Uspenski, G. M., Ueber die Sterilisirung organischer Flüssigkeiten mit Nordtmeyer-Berkefeld'schem Filter (Wratsch 1893, p. 656 [Russisch]).

92. Vignon, L., Sur la stabilité et la conservation des solutions étendues de sublimé (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, 1893, p. 793). — (S. 39)

93. Wasserfiltration durch Platten-Filter nach Fischer-Peters (Wochenschr. f. Brauerei 1893, no. 22). — (S. 29)

94. Watt, F., Einfache Methode zum Sterilisiren von Wasser für häusliche Zwecke (Chem. News vol. LXVIII p. 178). — (S. 24)

95. Wichmann, H., Ueber die Askosporenzüchtung auf Thon (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 62). — (S. 39)

96. Winkler, Die Anfertigung von Mikrotomschnitten aus lebenden Bakterienkulturen ohne Härtung (Fortschr. d. Medizin Bd. XI, 1893, p. 889). — (S. 40)

97. Wortmann, J., Mittheilung über die Verwendung von konzentrirtem Most für Pilzkulturen (Botanische Zeitg. Abth. II, 1893, No. 12). — (S. 11)

98. Zune, A. J., Étuve bactériologique et à vide (Bull. de l'Assoc. belge des Chimistes t. VII, 1893, novembre). — (S. 24)

Culturverfahren, Nährsubstrate etc.

Schultz (83) empfiehlt folgendes Verfahren zur schnellen, in einer Stunde beendeten Darstellung von Agar. 1500 cc Wasser werden unter Zufügung von 18 g Agar in einem emaillirten eisernen Gefäss von 2 Liter Inhalt auf einem Gasofen 30 Minuten kräftig gekocht. Der dicke weisse Schaum wird entfernt und während des Kochens 2 g Liebig'scher Fleischextrakt zugesetzt. Dann lässt man das Gemisch auf 60° abkühlen, fügt 10 g Pepton Witte und 5 g NaCl und den ganzen Inhalt eines Eies in einer zum Ersatz des verdampften genügenden Menge Wasser zu und mischt. Die nun gewöhnlich zu stark alkalische Reaktion wird mit Salzsäure abgeschwächt, besser ist es aber dies vor dem Zusatz des Eies zu thun. Das Gefäss wird dann wieder auf's Feuer gestellt und 5-10 Minuten gekocht, worauf das Gemisch schnell durch ein angefeuchtetes gewöhnliches Filter ohne Anwendung eines Heisswassertrichters läuft. Eventuell kann dann nochmals ein Eiweiss zugesetzt, kurz aufgekocht und wieder

filtrirt werden. Das Filtrat beträgt 1000 cc. Wenn das Gemisch nicht in wenigen Minuten filtrirt, so ist die Reaktion zu stark alkalisch.

Wenn Fleischwasser benutzt werden soll, so wird 1 Pfund (wohl englisch) fein gehacktes Fleisch in 1500 cc Wasser bei 50° C 30 Minuten erwärmt, dann durch ein Tuch gedrückt, 5 Minuten gekocht, filtrirt, Agar zugesetzt und wie oben verfahren.

Mit N. K. SCHULTZ[1] stimmt Verf. darin überein, dass Phenolphtalein ein guter Indikator für Nährsubstrate ist, dass es dann aber vorzuziehen ist mit Natronlauge statt mit kohlensaurem Natron zu neutralisiren, weil die sich entwickelnde Kohlensäure den Indikator stört. Verf. hebt hervor, dass sein Verfahren viel schnelleres Arbeiten gestatte, wie das von N. K. SCHULTZ.

Acosta und **Grande Rossi** (26) empfehlen als neu das alte Rezept die Verunreinigungen der Gelatine absetzen zu lassen und nach dem Erstarren die unterste Schicht abzuschneiden, um das Filtriren zu sparen. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Timpe (90) verwirft die Neutralisation der Nährböden mit Hülfe von Lakmus, weil die Farbe hierbei kontinuirlich von Roth nach Blau übergeht und die richtige Nüance für Viele schwer zu beurtheilen ist. Dazu kommt, dass das in den Nährböden vorhandene Pepton sich den Indikatoren gegenüber nicht indifferent verhält, sondern wie alle Eiweisskörper eine ihm eigenthümliche Reaktion besitzt. Pepton reagirt auf Lakmus alkalisch, auf Phenolphtalein sauer. Dies dürfte daher rühren, dass die Eiweisskörper zugleich saurer und basischer Natur sind, wobei erstere indessen meist vorwaltet. Deshalb erscheint bei der Prüfung eines peptonhaltigen Nährbodens mit Lakmus die alkalische Reaktion verstärkt, während gerade das Pepton die Acidität erhöht. Diese Schwierigkeiten fallen bei Anwendung von Phenolphtalein fort, weil auf diesen Indikator Eiweiss und Leim sauer reagiren und auch die Phosphate sich so zu ihm verhalten, dass scharfe Neutralisation möglich ist. Die Monophosphate reagiren auf Phenolphtalein wie auf Lakmus sauer, die Diphosphate auf Lakmus alkalisch, auf Phenolphtalein neutral, so dass man mit Hülfe des letzteren die Monophosphate quantitativ bestimmen kann.

Ein brauchbarer Nährboden muss eine bestimmte Acidität haben und es muss daher, wenn das Nährsubstrat bis zur Reaktion auf Phenolphtalein neutralisirt wurde und so nur zweibasische Phosphate sowie Eiweisskörper und Leim in Verbindung mit Alkalien enthält, nach dem Filtriren die nöthige Acidität hergestellt werden, was auf diese Weise sehr genau möglich ist.

Das Verfahren zur Herstellung der Nährgelatine ist demnach folgendes. Die durch Kochen vom Eiweiss befreite Fleischbrühe wird mit 1 %

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 26.

Pepton, $^1/_2$ $^0/_0$ Kochsalz, 10 $^0/_0$ Gelatine versetzt, gelinde erwärmt, dann gekocht und siedend heiss mit so viel 25 $^0/_0$ Kalilauge versetzt, dass ein Tropfen auf mit alkoholischer Phenolphtaleinlösung getränktem Fliesspapier einen roth gesäumten Fleck erzeugt. Im Reagensrohre muss die Gelatine mit Phenolphtalein deutlich roth reagiren. Der Niederschlag von Calciumphosphat setzt sich dann schnell und es kann rasch ohne Heisswassertrichter filtrirt werden. Das auf Phenolphtalein alkalisch reagirende Filtrat versetzt man dann mit der berechneten Menge titrirte Säure, am besten Salzsäure. Die Acidität der fertigen Nährgelatine ist dadurch bedingt, dass bei Gegenwart einer genügenden Menge von Säure die Verbindungen von Pepton und Leim mit Basen nicht bestehen können. Die Acidität von Nährgelatine kann durch Gelatine oder Pepton und Gelatine bedingt sein.

Die Versuche des Verf. mit Cholerabakterien zeigen, dass der saure Charakter der Eiweisskörper auch das Bakterienwachsthum schädlich beeinflussen kann. Es können aber auch die von den Bakterien selbst producirten Spaltungsprodukte der stickstoffhaltigen organischen Bestandtheile der Nährgelatine eine höhere Acidität besitzen, wie die Körper, aus denen sie hervorgingen und es können sich die Bakterien so, auch ohne dass sie selbst Säure produciren, die Weiterentwickelung unmöglich machen. Es können aber z. B. Pepton und Kasein auch umgekehrt als Neutralisationsmittel der von Bakterien producirten Säure günstig wirken (vgl. die Arbeit dess. Verf. hinten unter „Milchsäuregährungen").

Hinsichtlich ihrer Ansprüche bezüglich optimaler Acidität der Nährgelatine sind die Bakterienarten natürlich verschieden.

Wortmann (97) empfiehlt als bequemes Nährsubstrat für sehr viele Pilze Traubenmost, der die nöthigen Nährstoffe in leicht assimilirbarer Form und günstigen Mengenverhältnissen enthält. Die allgemeinere Verwendung des Mostes in den Laboratorien vereitelte bisher der Umstand, dass der Jahresbedarf des nur zur Zeit der Lese in Weinbaugegenden erhältlichen Mostes kaum im Voraus bestimmt werden konnte. Diesem Mangel ist nun durch die Firma Favara Figli in Mazzara del Vallo (Sizilien) ein Ende bereitet, welche auf $^1/_4$ des Volumens wahrscheinlich im Vakuum nach einem geheim gehaltenen Verfahren eingedickten Traubenmost in den Handel bringt. Diese concentrirten Moste aus frischen Trauben bereitet, sind von sirupartiger Consistenz und enthalten alle Extraktstoffe des frischen Mostes. Die Firma bringt verschiedene Qualitäten in den Handel und zwar aus weissen Trauben ohne Zuthat, aus weissen Trauben und filtrirt vor der Concentration, aus weissen Trauben entsäuert und filtrirt vor der Concentration; aus schwarzen Trauben ohne Zuthat, aus schwarzen Trauben, wobei im Moste die Hülsen belassen werden, aus weissen Trauben, wobei ebenfalls der Most die Hülsen noch enthält; in beiden letzteren Fällen kommen auf 85 kg concentrirten Most 15 kg Hülsen.

Die concentrirten Moste enthalten 65 % Traubenzucker, der grösstentheils in Körnchen ausgeschieden ist; dieser hohe Zuckergehalt lässt die Moste nicht verschimmeln und nicht in Gährung kommen, trotzdem sie lebende Hefe enthalten.

Aus diesem concentrirten Most erhält man eine vorzügliche Nährlösung für Schimmelpilze und Hefe, wenn man in einem Glascylinder zum Most 4-5 Theile Wasser bringt, umschüttelt und etwa 1 Stunde stehen lässt. Der noch trübe Most kann dann durch Zusatz von zu Schaum geschlagenem Hühnereiweiss und Umschütteln geklärt oder „geschönt" werden.

Vergleichende Versuche zeigten, dass die Verdünnung von 1 Vol. Most mit 4 Vol. Wasser die grösste Zellenzahl einer hineingebrachten Hefe ergab. Dieser verdünnte Most enthält 20,04 % Zucker, 0,2404 % Säure (als Weinsäure berechnet) und 0,0265 % Stickstoff. Der cbmm dieser Verdünnung lieferte 71 600 Hefezellen, eine freilich hinter der in unverdünntem Rheingauer Most erhaltenen (in einem Falle 268 000 Zellen) erheblich zurückstehende Ernte. Dies ist wohl auf den geringeren Stickstoffgehalt des sizilianischen Mostes zurückzuführen, der wahrscheinlich aus ordinären Trauben geringer Lagen hergestellt wird; deutscher Most aus guten und mittleren Lagen enthält 0,05-0,1 % Stickstoff.

Der concentrirte Most liefert unter Zusatz von 8 Vol. Wasser und 10 % Gelatine nach dem Schönen eine hellgelbliche, durchsichtige für Schimmelpilze ausgezeichnete Nährgelatine.

Dieser Most stellt also ein in beliebiger Menge jederzeit erhältliches, beliebig lange unzersetzt aufzubewahrendes, sehr günstiges Material dar, aus dem bei vergleichenden Versuchen ein jederzeit gleich zusammengesetztes Nährsubstrat hergestellt werden kann.

In kleineren Mengen ist dieser Most in verlötheten Blechbüchsen von 1 Kilo Inhalt von dem Vertreter der genannten Firma, Herrn Barone a Prato in Segonzano, Poststation Cembra, Tirol zu beziehen, doch ist diese Bezugsweise durch Verpackung, Porto und Zoll sehr theuer, so dass sich der Preis von 3,7 Kilo Most von 3 Lire 90 Cent. durch die Unkosten auf 9 Mk. erhöhte. Fassweiser Bezug ist durch theilweisen Schifftransport erheblich billiger und Verf. ist ausserdem bereit Fachgenossen zu Versuchen kleinere Quantitäten des Mostes aus dem Vorrathe der von ihm geleiteten Versuchstation in Geisenheim zum Bezugs- und Verpackungspreise zu überlassen. Er verwendet zur Weinhefenreinzucht in grösserem Massstabe die aus weissen Trauben hergestellte, vor der Concentration filtrirte Marke, von der loco Mazzara 100 k 105 Lire kosten.

Schweinitz (84) fand, dass die Bakterien der amerikanischen Schweineseuche auf Agar mit dem von Fermi benutzten Salzgemisch (0,2 Magnesiumsulfat, 1 Monokaliumphosphat, 10 Ammoniumphosphat, 45 Glycerin in 1000 Wasser) gut wachsen und empfiehlt derartige Substrate,

indem er mit Recht den Vortheil hervorhebt, dass man dann mit reinen Salzen und bekannten Faktoren arbeitet. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Parascandole (77) verwendete frisches Hühnereiweiss in folgender Weise zu Bakterienkulturen. Frischgelegte Eier wurden zuerst mit 90^0 Alkohol gereinigt, dann mit 1 $^0/_{00}$ Sublimat 10 Minuten abgespült und nach abermaliger Reinigung behufs Konservirung mit Paraffin überzogen. Vor der Verwendung des Eies zum Versuche wurde die ganze Paraffinschicht mit sterilem Messer abgekratzt und der Rest mit Terpentin entfernt, dann wieder Alkohol, Sublimat und wieder Alkohol angewandt, dann an einem Ende mit einem glühenden Eisen ein Loch gemacht, das Ei mit diesem auf ein steriles Glas gelegt und am anderen Pole dann auch ein Loch gemacht, worauf das Eiweiss in das Glas floss. In solchem Eiweiss beobachtete Verf. zum Unterschied von einigen anderen Autoren lebhafte Entwickelung der untersuchten Bacterien.

Marchal (69) findet zur Kultur verschiedener Bakterien sehr geeignet eine Lösung von Hühnereiweiss, das durch Zusatz von Eisensulfat an der Coagulation gehindert wird und bei 115^0 sterilisirt werden kann. Auf 100 Theile verdünntes und filtrirtes frisches Hühnereiweiss kommen soviel cc einer 0,1 $^0/_0$ Eisensulfatlösung als Eiweissprozente in der Lösung enthalten sind. Die Lösungen sind klar und leicht alkalisch. (Bot.Centralbl.)

Lindner (68) beschreibt ein abgeändertes Verfahren der Einzellkultur für Hefe. Er schüttelt das Untersuchungsmaterial in Würze auf und bringt davon mit einer Schreibfeder eine grössere Anzahl isolirter Hänge-Tröpfchen auf ein Deckglas; diejenigen Tröpfchen, welche nur eine Zelle enthalten, können dann leicht auf der Deckglasoberseite mit Tinte bezeichnet werden.

Der Verf. beschreibt dann weiter an der Hand von Figuren das Auswachsen alter Hefenzellen in frischer Würze.

Lickfett (66) empfiehlt die bekannten von Hansen zur Hefereinkultur benutzten Gelatinehängetropfen.

Drossbach (35) schlägt eine Art von modifizirter Verdünnungsmethode zur Reinkultur von Mikroorganismen auch Protozoen vor. Er nimmt Glasplatten oder Petri'sche Schalen von 100 qc Fläche, die auf dem qc bis zu 16 Vertiefungen, die 2-3 mm tief sind, haben. Giesst man auf eine solche 2-3 cc Flüssigkeit, die nicht mehr als 1000 Keime enthalten und streicht die obersten Schichten der Flüssigkeit mit sterilem Papier ab, so wird in den meisten der in den Grübchen enthaltenen Flüssigkeitströpfchen je ein Keim enthalten sein, der sich zu einer Reinkultur vermehrt. Die Grübchen kann man sich mit einem Korkbohrer selbst herstellen, wenn man eine Schale mit Paraffin ausgiesst.

Holten (49) benutzt zur Reinkultur in flüssigem Nährboden ähnlich wie Drossbach (s. vor. Ref.) Glasplatten mit einem Netz von etwa 1 mm

vorragenden Leisten, welches er sich ev. selbst mit Asphaltlacklinien herstellt; er benutzt Platten von 12×9 cm mit 70 Quadratcentimetereintheilungen. Jedes Quadrat erhält dann mit Hülfe einer Pipette einen Tropfen, der sich flach ausbreitet aber die Leisten nicht benetzt. Die Verdünnung der die reinzukultivirenden Organismen enthaltenden Flüssigkeit muss so weit getrieben werden, dass nur jeder 4. Tropfen inficirt wird. Wenn man der Platte einen Rand aus mit Lack befestigten Asbestschnüren giebt und eine andere Platte, die auf der Unterfläche einen ebensolchen, etwas weiter aussen befindlichen Rand besitzt, darüber deckt, so kann die Kultur auch mikroskopisch ohne Infektionsgefahr untersucht werden. Verf. glaubt, dass diese von ihm und Drossbach empfohlenen Tropfenplatten sowohl den „Verdünnungsbakteriologen" werthvolle Dienste leisten als den „Gelatineenthusiasten" die Vortheile der Reinkultur in Flüssigkeiten zugänglicher machen werden.

Drossbach (34) hebt hervor, dass bei den gewöhnlichen Wasseruntersuchungen mit Gelatineplatten die schnell wachsenden Formen die Platte überwuchern, ehe die langsam wachsenden aufkommen können. Er empfiehlt daher die Colonien der ersteren durch Betupfen mit Sublimat zurückzuhalten. Der Wunsch auch die hygienisch wichtigen fakultativen Anaerobionten bei solchen Untersuchungen berücksichtigen zu können, führt Verf. zur Ausprobirung neuer bequemer Sauerstoffabsorptionsmittel. Er findet, dass Eisenoxydul zwar nicht den strengsten Anaerobionten die günstigsten Lebensbedingungen schaffen kann, wohl aber die Entwickelung vieler sichert und das Ueberwuchern aerobiotischer Arten hindert. Verf. verwendet dasselbe in der Weise, dass er auf den Boden eines Dosenexsikkators eine 1-2 cm hohe Schicht concentrirter Natronlauge giesst, darauf vorsichtig die concentrirte Lösung der aequivalenten Menge von Eisenchlorür schichtet, ohne die Flüssigkeiten zu mischen. Dann setzt er den mit einem zusammengeschmolzenen Gemisch von 2 Theilen Wachs und 1 Theil Mandeloel gedichteten Deckel auf und mischt die beiden Flüssigkeiten durch Umschwenken. Es scheidet sich dann unter starker Erwärmung das Eisenoxydul aus und kleidet als steifer Brei die Innenwand des Exsikkators in grosser Fläche aus. Wenn beim jedesmaligen Gebrauche die Dose nur so wenig wie möglich geöffnet wird, kann, genügende Oxydulmenge vorausgesetzt, die Dose oft verwendet werden.

Viel energischer als Eisenoxydul wirkt Chromoxydul. Als solches lässt es sich nicht verwenden, weil es das Wasser zersetzt und der entwickelte Wasserstoff den Exsikkatordeckel heben würde. Vortheilhaft verwendet man Chromacetat. Eine concentrirte Lösung von rohem Chromsesquichlorid wird mit Zink und Salzsäure reducirt, bis die Lösung rein blau erscheint. Dieselbe wird unfiltrirt auf die im Exsikkator befindliche concentrirte Natriumacetatlösung geschichtet und wie oben beim Eisenoxydul angegeben

weiter verfahren. Das ausgeschiedene rothe Acetat absorbirt Sauerstoff ausserordentlich rasch unter Erwärmung. Hat man bei genügend grossem Untertheil des Exsikkators 100-200 g Chromchlorür verwandt, so kann die Dose oft verwendet werden. So kann man auch die strengsten Anaerobionten zur Entwickelung bringen.

Griffiths (44) misst das zu untersuchende Wasser in einer mit Theilung versehenen Pipette ab und spritzt es aus dieser mit einem Gummigebläse in ein Culturrohr, an dessen Wand sich Nährgelatine befindet. Das Verfahren soll den Vorzug haben dass die Keime oberflächlich auf die Gelatine kommen, dass nicht ein Theil derselben beim Schmelzen der Gelatine getödtet wird, dass Infektionen leichter vermieden werden. Verf. erhielt bei verschiedenen Wässern um 1-3 % höhere Keimzahlen als bei dem üblichen Plattenverfahren. Die beigegebene Figur ist offenbar unrichtig. (Chem. Centralblatt.)

Beneke (29) empfiehlt bei Herstellung von Stichkulturen in Gelatineröhrchen die Nadel dicht am Glase und nicht in der Mitte herabzuführen, weil die Colonien dann mikroskopisch zugänglich sind. Dieselben scheinen ihm oft instruktiver, wie die auf Platten erhaltenen.

Smith (86) empfiehlt das Gährungskölbchen als diagnostisches Hülfsmittel, da die Gasmenge und das Verhältniss $\frac{H}{CO_2}$ bei derselben Bakterienart in derselben Nährlösung ziemlich konstant sind. Als Wasserstoff wurde dabei alles explosionsfähige Gas angesprochen. Bei B. coli war in Dextrosebouillon $\frac{H}{CO_2} = \frac{2}{1}$, ebenso in Milchzuckerbouillon. Rohrzucker vergohr eine Varietät wie Traubenzucker, einige andere Varietäten sehr langsam, andere gar nicht. Lakmus zeigte bei diesen und anderen Arten desto mehr Säure an, je grösser das relative Volum Wasserstoff war.

Die Hogcholeragruppe mit Einschluss von B. enteritidis, B. typhi murium und dem B. der Schweinepest zeigen dieselben Gährungserscheinungen. Sie vergähren Dextrose wie B. coli, greifen Milch- und Rohrzucker nicht an.

Proteus vulgaris vergährt Milchzucker nicht, B. oedematis maligni Rohrzucker nicht und der Friedlaender'sche Bacillus Milchzucker ganz schwach. Ein in Wasser häufiger B. cloacae Jordan, der etwa so gross wie B. coli, sehr beweglich ist und Gelatine sehr spät verflüssigt, bildet aus Dextrose oder Rohrzucker $\frac{H}{CO_2} = \frac{1}{2}$ oder $\frac{1}{3}$, wobei wenig Säure entsteht und die Flüssigkeit sogar nach beendeter Gährung manchmal alkalisch ist.

Bei der Unterscheidung typhusähnlicher Bakterien darf nicht Milchzuckerbouillon allein gebraucht werden, sondern auch Rohrzucker und Dex-

trose, da ähnliche pathogene Arten (Hogcholera) Milchzucker nicht vergähren. Kolonbakterien sind in Wasser nachzuweisen, wenn man eine Serie Gährungskölbchen mit bestimmten Wassermengen impft, die Kolonbakterien werden dann durch Gasbildung angezeigt.

Vorsicht ist bei allen solchen Versuchen geboten, da Bouillon oft gährfähigen Muskelzucker enthält.

A. Koch (58) zieht es vor, statt mit der bekanntlich besonders beim Feuchtwerden unsicheren Watte, Reinkulturen mit einer antiseptischen Flüssigkeit abzuschliessen, in welcher letzteren die in der ev. in die Kultur eindringenden Luft enthaltenen Organismen abgetödtet werden. Zu diesem Zwecke wird der Kulturkolben mit einem doppeltdurchbohrten Kautschukpfropfen verschlossen, durch dessen eine Bohrung ein U-förmig gebogenes Glasrohr hindurchgeht. Dieses U-Rohr ist auf jedem Schenkel ein oder mehrere Male kugelförmig aufgeblasen und enthält eine passende Menge einer Flüssigkeit, welche die in der Blase für Blase durchpassirenden Luft enthaltenen Organismen tödtet, also z. B. 1 $^0/_0$ Sublimat, mässig verdünnte Schwefelsäure oder dergl. Die zweite Bohrung des Kautschukpfropfens nimmt ein kurzes, nur bis zur unteren Pfropfenfläche reichendes Glasrohr auf, welches mit Watte gefüllt ist. Nachdem dann der Kautschukpfropfen durch einen darübergelegten Draht oder Bindfaden an den Kolbenhals festgebunden wurde, wird der ganze mit der Nährlösung gefüllte Apparat sammt der im U-Rohr befindlichen antiseptischen Flüssigkeit heiss sterilisirt und sofort nach dem letzten Sterilisiren die Fugen zwischen Kolbenhals und Kautschukpfropfen, sowie zwischen letzterem und den Glasröhren mit einem Gemisch aus 2 Theilen Paraffin und 1 Theil Kautschuk verstrichen.

Nach dem Erkalten der Nährlösung wird dann die Kultur mit den gewünschten Organismen in der Weise besät, dass letztere mit einer frisch ausgezogenen Glaskapillare aufgenommen und die Kapillare dann durch das kurze Glasrohr des Kautschukpfropfens nach Herausnahme der Watte eingeführt und abgebrochen wird. Nach Wiedereinführung der Watte wird das kurze Rohr durch einen Siegellacktropfen dauernd verschlossen.

Um die von der so vorbereiteten Kultur produzirten Gase zur Untersuchung zu sammeln hat man nur nöthig, das Ende des U-Rohres in Quecksilber tauchen zu lassen und darauf dann ein mit Quecksilber gefülltes Rohr, Eudiometer oder dergl. zu setzen.

Unter den beschriebenen Verhältnissen steht den in der Kultur befindlichen Organismen nur eine beschränkte Menge Sauerstoff zur Verfügung, die eventuell bald durch Gährungsgase verdrängt und ersetzt wird. Soll der Sauerstoff zum Zweck der Kultur anaerobiotischer Organismen von vornherein nahezu ganz ausgeschlossen werden, so versiegele man das kurze Impfröhrchen sofort nach Beendigung der letzten Sterilisation und verbinde das Kulturgefäss mittelst des U-Rohres mit einem Kipp'schen

oder einem ähnlichen Apparat, der das zum Ersatz der Luft gewünschte Gas liefert. Bei Ausführung der Impfung kann der Siegellack im Impfröhrchen leicht mit einer heissen Pincette durchstossen werden.

Lüftung der Kultur kann sehr bequem und sicher durch ein drittes, den Kautschukpfropfen durchsetzendes Rohr erreicht werden, welches in die Kulturflüssigkeit eintaucht, aussen aber auch U-förmig gebogen, aufgeblasen und mit antiseptischer Flüssigkeit gefüllt ist.

Derartige Vorrichtungen sind auch sehr bequem, wenn z. B. Kulturen höherer Pflanzen, von Algen etc. bei Ausschluss von Bakterien durchlüftet werden sollen. An der Bewegung der in den U-Rohren befindlichen Flüssigkeit sieht man sofort, ob die Kultur im Uebrigen dicht schliesst und ob die Lüftung in gewünschter Stärke funktionirt. Zur Lüftung beschreibt Verf. einen einfachen Apparat, der ohne Aufsicht sicher funktionirt, wenig Wasser braucht und von einer Wasserleitung mit Druck unabhängig ist. Derselbe besteht aus einer Flasche, in welche Wasser ununterbrochen langsam hineinläuft und so die Luft aus der Flasche in die Kultur drängt; ist die Flasche voll Wasser, so fängt ein Heber automatisch zu wirken an und entleert die Flasche wieder. Ist dies erreicht, so lässt der aus einem weiten Rohr hergestellte Heber das Wasser fallen und das ununterbrochen zulaufende Wasser drückt nun die Luft wieder in die Kultur. Ein Ansaugen der Luft aus der Kultur während des Wasserablaufs aus der grossen Flasche ist dadurch vermieden, dass zwischen die grosse Flasche und die Kultur eine kleine Flasche mit doppeltdurchbohrtem Kork eingeschaltet ist, in welcher die nach der Kultur strömende Luft eine Wasserschicht passiren muss. Dieses Wasser sperrt das Verbindungsrohr, während das Wasser aus der grossen Flasche abgehebert wird. Luft tritt jetzt durch ein anderes Rohr ein, an welches wieder eine kleine Flasche mit doppeltdurchbohrtem Kork derart angeschlossen ist, dass die eintretende Luft eine Wasserschicht passirt. Dieses Wasser sperrt das Lufteintrittsrohr, während das Wasser die Luft aus der grossen Flasche in die Kultur treibt und verhindert so, dass die Luft ins Freie statt in die Kultur geht. Bezüglich weiterer Details vergleiche das Original und die daselbst gegebene Abbildung.

Pannwitz (76) empfiehlt den Gefässen, welche sterilisirte Gegenstände enthalten einen breiten, mit sanfter Wölbung nach aussen abfallenden Rand zu geben, eine Gummikappe überzuziehen und in diese, da wo sie auf jenem Rande aufliegt ein kleines Loch mit glühendem Platindraht zu machen. Durch Ueberdruck beim leichten Erwärmen des Gefässes wird dann der Kappenrand etwas abgehoben und der Druck gleicht sich durch das freigelegte Loch aus. Beim Erkalten des Gefässes wird durch den negativen Druck der Kautschuk etwas eingesogen und so der sichere Schluss kontrollirt. Bei dieser Einrichtung wird auch das Springen des Gefässes oder das Abfliegen der Kappe beim Erhitzen vermieden. Passende Gefässe

und Kappen liefern Bach & Riedel, Berlin, Alexandrinenstrasse 57 und Wwe. Neunreiter, Strassburg i./E.

Novy (75) giebt zunächst eine Uebersicht über die bisher gebrauchten Methoden zur Kultur anaerobiotischer Bakterien und beschreibt dann seine neue vereinfachte Versuchsanordnung zum gleichen Zweck. Er liess sich von Greiner & Friedrichs in Stützerbach in Thüringen eine Standflasche herstellen, in deren hohlem Glasstöpsel zwei Oeffnungen sich befinden, von denen eine eine bis auf den Boden reichende Glasröhre trägt, während in zwei entsprechenden Oeffnungen des Halses der Flasche zwei Glasröhren aussen angeschmolzen sind. Auf diese Weise kann man die Flasche auspumpen oder Gase durchleiten und sie dann durch einfaches Umdrehen des Stöpsels verschliessen. Nach dem Auspumpen ist es aber rathsam den Verschluss durch aussen an die Glasröhren angesetzte Glashähne zu bewirken, weil sonst der Stöpsel kaum wieder zu lösen ist. Von der obengenannten Adresse sind solche Flaschen von 10 oder 8 cm innerem Durchmesser und 20 oder 15 cm Höhe zum Preise von etwa 6 M. ohne Seitenhähne und etwa 10 M. mit Seitenhähnen zu erhalten. Einfacher stellt man sich denselben Apparat aus einer Flasche mit doppelt durchbohrtem Gummistopfen und zwei Glashähnen selbst her. In dergleichen Flaschen stellt man dann die geimpften Reagensröhren mit lockerem Wattepfropf ein und kann sie dann im Vakuum oder verschiedenen Gasen kultiviren oder Kalilauge hineinbringen und Pyrogallussäure nach dem Einsetzen der Reagensrohre hineinsaugen.

Sehr wichtig ist für diese Kulturversuche die Wahl eines passenden Substrates. Leicht alkalischer Nährboden ist wohl am besten geeignet. Anaerobiotische Bakterien wachsen auch in stark alkalischer Bouillon Anfangs ausgezeichnet, sterben aber dann oft schnell ab. Stets besser wachsen die Anaërobien auf frisch bereiteten oder frisch im Sterilisator erhitzten Substraten, doch fällt dieser Unterschied bei Gelatine fort. Das Aussaatmaterial muss möglichst von jungen Kulturen genommen werden, da alte oft ein negatives Resultat geben. Sehr günstig ist ein Zusatz von bis 2 % Pepton zum Nährsubstrat, vortheilhaft ist auch der schon früher empfohlene Traubenzuckerzusatz, welcher Körper auch durch Sauerstoffabsorption wirken soll. Merkwürdig günstig erweist sich auch ein Zusatz von Lakmus zum Nährsubstrat, der eine schützende Wirkung auf die Anaerobien ausübt vielleicht weil er manche zerstörend wirkende Lichtstrahlen absorbirt. So kann man Anaerobien selbst in der Luft ausgesetzter Bouillon Monate lang erhalten, wenn sie nur mit Lakmus gefärbt ist. Sehr wichtig ist auch der Zusatz von 2-5 % Gelatine zu Substraten für Anaerobienkultur. In Reagensröhren mit 10-12 % Gelatine, die mit 2 % Traubenzucker und Lakmus versetzt ist, wachsen Reinkulturen von anaerobiotischen Formen üppig trotzdem die Gelatine verflüssigt wird. Vielleicht dringt der

Sauerstoff in so viskose Flüssigkeit schwer ein. Auf diese Weise ist es also möglich sehr einfach grosse Kulturen von Anaërobien in Flüssigkeit zu gewinnen. Solche Gelatinekulturen bleiben auch viel länger lebensfähig als solche in Agar. Endlich gelingt es auch in flüssigem Substrat nämlich in alkalischer Bouillon mit 2 % Gelatinepepton und Zucker Anaerobien an der Luft bei Bruttemperatur zu kultiviren, aber oft schlägt der Versuch auch fehl.

Folgendes sind also die Recepte der Substrate für Anaerobienkultur:

1. Rinderbouillon, $^1/_2$ % NaCl, 2 % Traubenzucker, 2 % Pepton	leicht aber deutlich alkalisch. Mit oder ohne Lakmus.
2. „ wie oben mit 2 % Gelatine	
3. 10-15 % Nährgelatine mit Salz, Pepton, Traubenzucker	
4. $1^1/_2$-2 % Nähragar „ „ „ „	

Roth (79) verwendet für Kultur von Anaerobien die platten Kulturflaschen, an deren unterem dem Halse gegenüberliegenden Ende seitlich ein einmal hin und her gebogenes Röhrchen angeschmolzen ist. Hals und Ansatzröhrchen sind mit Watte gefüllt. Nach dem Einbringen der Aussaat in die in der Flasche befindliche Gelatine wird von dem dünnen Ansatzröhrchen her Wasserstoff durchgeleitet, wobei der Hals der Flasche nach unten gehalten wird. Dann wird Paraffin auf die Watte des Halses gegossen, das Ansatzröhrchen in Paraffin getaucht und der Gasschlauch abgezogen. Beim Abimpfen erwärmt man den Hals und zieht die Watte mittels eines von vornherein darin befindlichen Drahtpfropfenziehers heraus. Für Kulturen, die ausserhalb des Laboratoriums bereitet werden müssen, vermeidet Verf. die leicht abbrechenden Ansatzröhrchen und leitet den Wasserstoff durch ein durch die Watte geschobenes Metallröhrchen ein; die Watte und das Röhrchen werden so tief in den Hals eingeschoben, dass derselbe dann durch Ausgiessen mit Paraffin verschlossen werden kann. Während das Paraffin noch flüssig ist, zieht man den Kautschukschlauch von dem Metallröhrchen ab, welches etwas Watte enthält, damit das Paraffin nicht hineinläuft. Man kann auch das Röhrchen nach Aufgiessen des Paraffins herausziehen und im geeigneten Moment ein an einem Draht befestigtes Stückchen Asbest, welches vorher neben das Röhrchen gebracht wurde in die durch das Herausziehen des Röhrchens in der Watte entsprechende Lücke bringen, damit das Paraffin nicht hineinläuft. Für Kulturen in Flüssigkeit, bei denen kräftige Gasentwickelung statt hat, steckt Verf. durch die Watte des Kolbens ein Glasrohr welches aussen als Gasableitungsrohr umgebogen und mit einer eingeblasenen Kugel versehen ist. Nach dem Sterilisiren und Besäen schiebt man das Glasrohr bis fast zum Boden vor und leitet dadurch Wasserstoff ein. Dann zieht man es über die Flüssigkeitsoberfläche empor, taucht das äussere Ende in Glycerin und giesst den Kolbenhals über der Watte mit Paraffin voll. Die Kugel am Gasableitungsrohr soll ein Eindringen von Glycerin bei starker Abkühlung vermeiden.

Sanfelice (81) empfiehlt zur Kultur von anaerobiotischen Formen, wie schon früher, die Gelatine- oder Agarplatten mit sterilen Platten zu bedecken, die Luft durch Druck zu entfernen und das Ganze mit Gelatine, die mit einem Antiseptikum versetzt wurde zu umgiessen. Zur Isolirung der erwachsenen Kolonien hebt man eine Platte ab, worauf die Gelatine oder der Agar an einer Platte hängen bleibt. Die sich ebenfalls entwickelnden Colonien von aerobiotischen Formen wachsen unter diesen Umständen langsam genug, um die erst nach 3-4 Tagen erscheinenden anaerobiotischen Colonien nicht zu stören. Man kann auch das Aussaatmaterial in verflüssigtem Agar in einem Röhrchen vertheilen, dann den Agar erstarren lassen, nach dem Erscheinen der Colonien nach äusserlicher Erwärmung des Röhrchens die feste Agarsäule auf eine sterile Platte ausschütten, dann den Agar in parallele Scheiben zerlegen, um so die einzelnen Colonien zu isoliren.

Beachtenswerth erscheint die Bemerkung des Verf., dass zur Kultur anaerobiotischer Formen weniger die Anwendung hoher Substratschichten oder der Zusatz reduzirender Substanzen wichtig ist, als die Verwendung frisch bereiteter Substrate, die noch keine Zeit hatten, den Luftsauerstoff wieder aufzunehmen.[1] Sterilisirt man Gelatine oder Agar mit 1 $^0/_0$ Dextrose oder $^1/_2$ $^0/_0$ ameisensauren Natron und etwas Methylenblau in Röhrchen, so ist das Substrat ungefärbt, weil es den darin gelösten Sauerstoff verloren hat. Beim Stehen an der Luft färbt sich das Substrat von oben nach unten in dem Masse als der Sauerstoff sich wieder darin löst. Die Färbung erreicht den Boden bei Verwendung einer 5 cm hohen Schicht erst in einigen Tagen und während dieser Zeit können sich also anaerobiotische Organismen am Boden des Röhrchens entwickeln, während dies nicht mehr gelingt, wenn so lange Zeit seit der Sterilisirung der Gelatine verstrich, dass der Sauerstoff sich auch in den tiefsten Gelatineschichten löste.

Der Verf. isolirte nun 9 anaerobiotische stäbchenförmige sporenbildende Formen aus Fleischaufgüssen, Erde, Faeces, Bindegewebe von an malignem Oedem, Tetanus oder Infektion mit Erde gestorbenen Thieren. Er beschreibt vorwiegend die kulturellen Merkmale und schildert sehr bedauerlicher Weise auf den beigegebenen photographischen Tafeln auch nur diese. Auf seine Untersuchungen über pathogene anaerobiotische Formen kann hier nicht eingegangen werden.

Heizeinrichtungen.

Schepilewsky (82) konstruirte einen Thermostaten mit einem Regulator, der von Gas und elektrischen, leicht unwirksam werdenden Regu-

---

[1]) Vgl. p. 18 unter Novy.

lirvorrichtungen unabhängig ist. Zu dem Zweck durchströmt das in einem kleinen Kessel erwärmte Wasser in einem Schlangenrohr den Raum zwischen der Doppelwand des Thermostaten und kehrt abgekühlt in den fortwährend geheizten Kessel zurück. Sobald der Thermostat zu heiss wird schliesst von Aetherdämpfen getriebenes Quecksilber die Leitung des heissen Wassers automatisch ab. Nähere Beschreibung ist ohne Figur unmöglich.

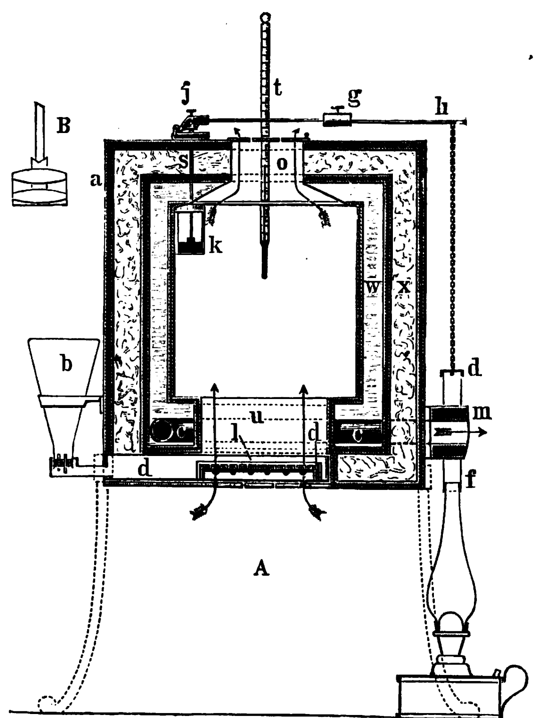
Landois (65) beschreibt eine selbstregulirende Brutofenheizvorrichtung, bei der der Brenner auf einem Wagen steht, welcher an jeder Seite ein Eimerchen trägt welches durch eine über eine Rolle gehende Schnur an dem Wagen hängt. Im Wasser des Brütofens steht eine Glas- und eine Zinkstange, die an einem Ende fest verbunden sind. Bei Erwärmung dehnen sich diese Stangen ungleich aus und verschieben mit ihren freien Enden eine auf ein dünnes Wasserzuflussrohr wirkende Hebelübertragung so, dass der Wasserzufluss in das linke Eimerchen des Brennerwagens geht. Dadurch gewinnt dieses bald das Uebergewicht und zieht den Brenner unter dem Brutofen vor, so dass letzterer sich abkühlen kann. Ist dies erreicht, so zieht sich das Zinkglasstangenpaar zusammen und die Hebelübertragung wirkt so auf den Wasserzufluss, dass jetzt das rechte Eimerchen voll läuft, welches durch sein Uebergewicht den Brenner unter den Brutofen zurückzieht. Das Wasser fliesst kontinuirlich in dünnem Strahle, die Eimerchen entleeren sich durch ein kleines Loch. Als Brenner kann natürlich jede Heizvorrichtung selbst ein Stearinlicht dienen.

A. Koch (57) beschreibt Brutöfen, die die durch ihre chemischen Wagen bekannte Fabrik von F. Sartorius in Göttingen neuerdings in den Handel bringt. Dieselben besitzen eine Regulirvorrichtung, welche Gas, Petroleum oder Spiritus als Heizquelle anzuwenden gestattet. Zu dem Zwecke ist im Innern des Brutofens eine geschlossene Metalldoppelkapsel *k* angebracht, die eine sich bei Temperaturerhöhung leicht ausdehnende Flüssigkeit enthält, unter deren Einfluss sich bei steigender Temperatur die Wände der Kapsel nach aussen vorwölben. Dabei hebt die Kapsel einen frei auf ihr stehenden Stift *s* mit in die Höhe, und dieser Stift wirkt auf einen auf der Oberfläche des Brutofens angebrachten Hebel *j g h*, an dessen freiem Ende *h* an einer Kette ein Deckel *d* hängt, der auf ein senkrechtes Rohrstück *f* passt, unter dem die Heizflamme steht. Von diesem senkrechten Rohrstück geht seitlich ein Rohr *c* aus, welches den Wassermantel des Brutofens durchzieht und sich schliesslich wieder neben seiner Eintrittsstelle nach aussen öffnet.

Der Apparat functionirt dann in der Weise, dass bei aufliegendem Deckel *d* die von der Flamme erwärmte Luft aus dem senkrechten Rohrstück *f* in das horizontale Rohr *c* übertritt und so das Wasser *w* des Brutofens erwärmt. Wenn dann durch Wärmeabgabe aus diesem Wasser der Innenraum des Brutofens sich bis zu einer bestimmten Höhe erwärmt hat,

so dehnt sich die Kapsel *k* (bei *B* besonders abgebildet) im Innern des Brutraumes aus, der Stift *s* wirkt auf die Justirungsschraube *j* und dadurch wird mit Hülfe des Hebels der Deckel von dem Schornstein abgehoben. Sobald dies geschehen, entweicht die von der Flamme erwärmte Luft frei durch das obere Ende des senkrechten Schornsteins *f* und erwärmt also das Wasser des Brutofens nicht. Sobald letzterer sich abkühlt, arbeitet die Kapsel im entgegengesetzten Sinne, der Deckel schliesst den Schornstein und die Wärme wirkt wieder auf den Brütofen.

Will man den Apparat auf eine bestimmte Temperatur einstellen, so lässt man den Brutofen die gewünschte Temperatur annehmen und regulirt nun den Hebel *j g h* zuerst grob mit der Justirungsschraube *j* und dann fein mit dem Laufgewicht *g* so, dass der Deckel den Schornstein eben schwebend berührt. Findet man dann nach einiger Zeit, dass die Temperatur erheblich gestiegen ist, so zieht man die Justirungsschraube etwas an, ist die Temperatur nur wenig gestiegen, so verschiebt man das Laufgewicht *g* etwas nach dem Unterstützungspunkt des Hebels hin; auf beide Weisen wird der Schornsteindeckel abgehoben. Umgekehrt verfährt man natürlich, wenn die Temperatur zu niedrig ist,



Innerhalb der ersten 14 Tage wird man die richtige Einstellung einige Male controliren müssen, dann schwankt aber die Temperatur des Brutofens nur sehr wenig, weil der Apparat gegen Variationen in der Temperatur der umgebenden Zimmerluft sehr unempfindlich ist, da er ausser dem Wassermantel *w* noch einen diesen umgebenden, mit Kieselguhr gefüllten Isolirmantel *x* besitzt.

Der Eingang zum Innenraum des Brutofens befindet sich an der Vorderseite.

Schliesslich besitzt der Brutofen noch eine Vorrichtung zur Ventilation mit feuchter Luft. Zu diesem Zwecke sind die Isolirmäntel des Brutofens unten und oben bei *u* und *o* ausgeschnitten. Der obere Ausschnitt ist durch zwei durchlochte Metallplatten verschlossen, die so aufeinander verschiebbar sind, dass die Löcher entweder aufeinander passen und die Luft hindurchtreten lassen oder nicht. Die unten eintretende Luft passirt einen seitlich einschiebbaren Blechkasten *d d*, in dem feuchte Leinwand *l* ausgespannt ist. Das zur Feuchthaltung dieser Leinwand nöthige Wasser liefert ein seitlich ausserhalb des Brutofens umgekehrt angebrachter ERLENMEYER'scher Kolben *b*, ans dem das Wasser nach Bedarf in den Blechkasten nachläuft.

Die beschriebene Regulirvorrichtung ist für Brutöfen und ähnliche Räume zur Aufnahme von Kulturen, für Paraffineinbettungen u. s. w. wohl verwendbar; sie gestattet, Temperaturen von 20 bis 70^0 constant zu halten, nur sind zur Erzielung so verschiedener Temperaturen im ganzen 6 verschiedene Kapseln *k* nöthig, von denen jede ein Intervall von 10^0 leistet. Bezüglich des Verbrauchs an Heizmaterial sei bemerkt, dass ein auf 37^0 C. eingestellter Brutofen mit 25 × 25 × 25 cm grossem Innenraum in 23 Stunden 858 Liter Gas brauchte.

Die Brutöfen werden in verschiedenen Ausstattungen und Grössen geliefert. 1. Einfachste Ausstattung. Aussen Holzmantel, Wassermantel aus Zink oder verbleitem Stahlblech. 2. Ganz in Metall und schwarz lackirt. Wassermantel aus Zink oder verbleitem Stahlblech. 3. Brütraum und Wassermantel aus starkem Kupferblech. 4. Wassermantel aus starkem Kupfer, Apparat ganz aus Metall, äusserer Mantel noch mit Filz und mattschwarzem Wachstuch überzogen.

Kleinere Sorte:	Grössere Sorte:
Innere Höhe: 25 cm	Innere Höhe: 40 cm
„ Breite: 25 „	„ Breite: 25 „
„ Tiefe: 25 „	„ Tiefe: 25 „

Die Preise stellen sich dann wie folgt:

Kleinere Sorte, Ausstattung 1 = 55 Mk., 2 = 75 Mk., 3 = 95 Mk., 4 = 110 Mk. Grössere Sorte, Ausstattung 1 = 90 Mk., 2 = 115 Mk., 3 = 125 Mk., 4 = 140 Mk.

Hanause (47) beschreibt einen Thermoregulator für Gas, der prinzipiell darauf beruht, dass unter dem Ende des in ein mit Luft gefülltes weites, im Thermostaten befindliches Rohr mündenden Gaszuführungsrohres ein Quecksilbernäpfchen sich befindet so dass die bei Temperatursteigerung sich ausdehnende Luft auf das Quecksilber drückt. dieses in das Gaszuführungsrohr hineinsteigen macht und so die Gaszufuhr abschliesst. Das

Ende des Gaszuführungsrohres besteht aus zwei concentrischen Rohren, von welchen das innere etwas kürzer ist und das äussere in Verbindung mit dem Brenner steht. Für das Erhaltungsflämmchen sorgt eine besondere Rohrgabelung, die direkt von der Leitung etwas Gas zum Brenner führt.

James (50) beschreibt einen Thermoregulator, bei dem die für die Empfindlichkeit schädliche direkte Berührung des Gases mit dem Quecksilber dadurch vermieden wird, dass auf dem Quecksilber eine Kugel schwimmt, die durch einen Stab mit einem Konus verbunden ist, der die Gaszuflussöffnung mehr oder minder verschliesst. Eine lose auf dem Konus liegende Kugel verschliesst den Gaszufluss bei dem Verlöschen der Flamme. (Chem. Centralbl.)

Zune (98) liess von der Société de construction d'instruments de physique in Genf einen Trockenschrank (Preis 200 Fr.) konstruiren, dessen Abtheilungen auch luftdicht zu verschliessen sind, so dass Anaerobien darin kultivirt werden können.

Bakterienfilter und andere Sterilisirverfahren.

Teich (89) controlirt das Verfahren von Babes[1], wobei in Trinkwasser durch Zusatz von Alaun ein Niederschlag erzeugt und dabei die Bakterien aus dem Wasser entfernt werden sollen. Es zeigte sich, dass zwar vereinzelt in sehr keimarmem Leitungswasser völlige Keimfreiheit in 18 Stunden erreicht und 2 Tage erhalten wurde, aber sonst nach anfänglicher beträchtlicher Verminderung der Keimzahl mindestens am 3. Tage erhebliche Keimvermehrung eintrat, so dass einmal schon nach 48 Stunden der ursprüngliche Keimgehalt wieder erreicht war.

Die Versuche mit Cholera- und Typhusbakterien liegen ausserhalb des Rahmens dieses Berichtes.

Watt (94) empfiehlt zu hartem Wasser Eisenchloridlösung zu setzen (1 Theelöffel der zehnfach verdünnten officinellen Lösung auf 1 Gallone). Es entsteht durch Reaktion mit den Bicarbonaten des Wassers sofort ein Niederschlag, der sich schnell klar absetzt und das von diesem abgegossene Wasser ist frei von Mikroorganismen, auch wenn es dieselben vorher reichlich enthielt. Ist das Wasser weich, so giebt man etwas Kalkwasser oder eine verdünnte Sodalösung nach dem Zusatz der Eisenlösung zu. Starkes Rühren befördert Bildung und Absetzen des Niederschlags von Eisenoxydhydrat, der die Trübung des Wassers und die Mikroorganismen mit zu Boden reisst. (Chem. Centralbl.)

Kröhnke (59) empfiehlt Wasser mit Kupferchlorür keimfrei zu machen, weil dieses Salz sehr giftig ist, am leichtesten von allen Kupfersalzen herzustellen ist, weil es sich sehr leicht und vollkommen wieder aus-

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 22.

scheiden lässt, weil es an der Luft schon theilweise seine Giftigkeit durch Uebergang in Chlorid verliert, weil es sich mit kohlensaurem Kalk nicht umsetzt und weil daraus das Kupfer immer ohne Verlust wieder gewonnen werden kann. Elbwasser war bei Zusatz von $^1/_{50000}$ einer Lösung von Kupferchlorür in Chlornatrium in 1 Stunde, bei $^1/_{250000}$ in 1-3 Stunden, bei $^1/_{500000}$ in 8 Stunden, bei $^1/_{1000000}$ in 24 Stunden ganz oder nahezu keimfrei. Um das Kupfer nun wieder völlig aus dem Wasser zu entfernen genügt es Kalk im Verhältniss 1 : 80000 zuzusetzen, wenn 1 Kupfer auf 155 000 Wasser gelöst ist. Um aber einen schneller sich absetzenden Niederschlag zu erzielen, wird vor dem Kalkzusatz Eisenvitriol beigemischt im Verhältniss 1 : 50 000, dann Kalk im gleichen Verhältniss. Man kann auch das gelöste Kupfer durch Zusatz von $^1/_{500000}$ Schwefelalkali in Schwefelkupfer überführen, wodurch der Kalkzusatz auf $^1/_{20000}$ vermindert wird. Das Kupfer kann auch noch dadurch aus dem Wasser entfernt werden, dass man dieses mit frisch gefälltem und noch feucht in Wasser aufgeschwemmten Schwefeleisen dargestellt aus Eisenvitriol und Schwefelnatrium kurze Zeit digerirt. Auch hier wird dann noch Kalk zugesetzt, jedoch wird an diesem wie an Eisenvitriol erheblich gespart. Bei Ausführung des Verfahrens wird durch Rührwerk die zugelassene Kupferchlorürlösung innig mit dem Wasser gemischt, das Wasser später in einem zweiten Bassin entkupfert und eventuell noch durch Sand filtrirt. Als Betriebskosten rechnet Verf. 0,03-0,08 ₰ per cbm und er hat seine Laboratoriumsversuche auch mit 4 cbm Wasser wiederholt. (Chemikerztg.)

Frankland (41) weist im Anschluss an die Arbeit von Babes[1] auf die theilweise schon früher publizirten günstigen Resultate hin, die er hinsichtlich der Reinigung des Wassers durch Sedimentirung erhielt.

Wasser mit $^1/_{10}$ seines Gewichtes Eisenschwamm (von G. Bischof) 15 Min. geschüttelt zeigte nach einer Sedimentirung von $^1/_2$ Stunde eine Bakterienverminderung von 609 auf 63 per cc, ebenso mit $^1/_{50}$ Kreide oder Thierkohle 15 Min. geschüttelt, dann 5 Stunden sedimentirt Rückgang von 8000 auf 270 resp. von 8000 auf 60. Aehnliche Zahlen ergab Holzkohle. Bei Behandlung mit Koks verschwanden manchmal alle Bakterien, in anderen Fällen war das Resultat weniger günstig: bei längerer Sedimentirung können die Bakterien sogar erheblich zunehmen, wenn sie in lebhafter Vermehrung begriffen sind und so nach vorübergehender Fällung wieder in die oberen Schichten des Wassers gelangen.

Weiter prüfte Verf. die in England lange gebräuchliche Clark'sche Methode der Wasserreinigung durch chemische Fällung mit Kalk. Im Kleinen wurde der Versuch mit Londoner Leitungswasser (filtrirtem Themsewasser) gemacht, welches 15 Theile kohlensauren Kalk in 100 000 Theilen enthält

[1]) Siehe Citat auf voriger Seite.

und dem soviel Kalkwasser zugesetzt wurde, dass 11,5 Theile gelöster kohlensaurer Kalk gefällt wurde. Nach 18stündiger Sedimentirung hatten die 85 Bakterien im cc sich auf 42 vermindert, während eine ohne Sedimentirung ebensolange stehen gelassene Probe 1922 zeigte. Zwei im Massstabe des Grossbetriebs auf einem Wasserwerk mit zweitägiger Sedimentirung und an dem Brunnen einer Zuckerraffinerie, wo das Wasser in einem Thurm mit schiefen Lamellen vom gefällten kohlensauren Kalk befreit wird, angestellte Versuche ergaben sogar eine Bakterienverminderung von 98-99 $^0/_0$.

Einige neuere Versuche des Verf. an Speisereservoiren von Wasserwerken ergaben, dass Flusswasser mit mehreren Tausend Keimen im cc nach etwa sechsmonatlichem Aufenthalte in grossen flachen Reservoiren, in denen dasselbe zur Erleichterung der Arbeit der Sandfilter sedimentirt, nur 464-368 Keime enthielt und ein anderes Wasser, welches vorher 1437 Keime enthielt, hatte nach mehrtägigem Verweilen im ersten Bassin 318 und nach ebensolchem Aufenthalt im zweiten Bassin 177 Keime.

Kirchner (52) unterzog die von Berkefeld aus gebrannter Infusorienerde hergestellten Filter einer Prüfung und kann sich auf Grund seiner Resultate der von anderen Autoren ausgesprochenen günstigen Meinung nicht anschliessen. Er findet sowohl bei Anschluss der Filter an die Wasserleitung von Hannover, als bei Verwendung derselben als Tropffilter ohne Druck, dass die Filter wohl eine sehr grosse Menge der Bakterien, manchmal alle zurückhalten, dass sie aber kein zuverlässig keimfreies Filtrat geben und die Keimfreiheit des Filtrates, wenn sie überhaupt eintritt nicht längere Zeit sondern höchstens einige Tage dauert. Die Ergiebigkeit der Filter in Verbindung mit der Wasserleitung ist gut, die der Tropffilter ohne Druck sehr gering, so dass auf die Anwendung der letzteren in der Praxis nach Ansicht des Verf. verzichtet werden muss.

Da Berkefeld besonders betont, dass durch seine Filter die pathogenen Bakterien weder hindurchfiltriren noch durchwachsen und einige Autoren Aehnliches angeben, prüft Verf. zum Ueberfluss diese Frage noch besonders. Er filtrirte frische Bouillonkulturen von Cholera- und Typhusbakterien sowie Staphylococcus pyogenes aureus durch kleine Laboratoriumsfilter bei $^2/_3$ Atmosphären Druck und fand dass Cholerabakterien und Staphylococcus schon nach 24 Stunden und zwar erstere massenhaft sich im Filtrat fanden, während Typhusbakterien erst nach 72 Stunden dasselbe thaten. Weiter mischte der Verf. solche Reinkulturen mit Flusswasser, da die früheren Autoren, die zu abweichenden Resultaten kamen, in dieser Weise verfuhren, und fand, dass auch hier die Cholera- und Typhusbakterien ebenfalls bald im Filtrat erschienen. Die Filter verhalten sich also gegen die pathogenen Bakterien ebenso wie gegen die nicht pathogenen und es findet ein Ueberwuchern der pathogenen durch die saprophyten Bakterien früher als die Keimdichtigkeit der Filter aufhört, nicht statt, während

Lübbert dies annimmt. Bei kritischer Betrachtung sprechen auch die Resultate früherer Autoren (Nordtmeyer, Weyl) für die Unzuverlässigkeit der Berkefeld-Filter. Jedenfalls sind nach allen Untersuchungen Porosität und Keimdichtigkeit der einzelnen Filtercylinder verschieden.

Den berühmten Chamberland-Filtern sind die Berkefeld-Filter an Ergiebigkeit überlegen, an Dichtigkeit stehen sie hinter ihnen zurück. Eine Erhöhung der letzteren Eigenschaft bei den Berkefeld-Filtern dürfte nur auf Kosten ihrer Leistungsfähigkeit möglich sein.

Praktisch misslich ist auch, dass die Berkefeld-Filter schon in neuem Zustande weich sind, nach mehrmaligem Sterilisiren aber deutlich eine Kieselguhrschicht auf der darüberstreichenden Hand zurücklassen; sie lassen sich auch ohne Druck zwischen den Fingern zerpulvern. Das Sterilisiren im strömenden Wasserdampf halten sie wie bekannt nicht aus. Die Zerbrechlichkeit verbunden mit der häufig nothwendigen Reinigung, die sorgfältig gemacht werden muss erhöht die Kosten der Berkefeld-Filter bedeutend; sie macht ihre Leistung auch unsicherer, weil ein kaum sichtbarer Sprung die Bakterien glatt hindurchgehen lässt.

Gruber (45) polemisirt hauptsächlich gegen Kirchner (siehe vor. Ref.) und tritt für Prochnik[1] ein, der in seinem Institute über die Leistungsfähigkeit der Berkefeld'schen Kieselguhrfilter arbeitete.

Als Normen für die Prüfung von Filtern betont Verf. Folgendes:

1. Bei der Beurtheilung von Filtern ist das Durchgespültwerden vom Durchwachsenwerden scharf zu scheiden.
2. Nur das Stattfinden des Ersteren beweist Unzuverlässigkeit des Filters.
3. Durchwachsen kann nur dann stattfinden, wenn die Bakterien in den Poren die nöthigen Vermehrungsbedingungen hinsichtlich Ernährung etc. finden. Durchwachsen von Wasserbakterien wird also unter gewissen Bedingungen bei allen Filtern erfolgen. Das Durchwachsen lässt sich durch niedere Temperatur des zu filtrirenden Wassers, ununterbrochenen Betrieb und periodische Reinigung der Filteroberfläche lange Zeit verhindern, wie Prochnik fand. Wo die ersteren beiden Bedingungen nicht einzuhalten sind, müsse man eben zu letzterem Mittel greifen.
4. Die Prüfung auf Keimdichtigkeit hat so zu geschehen, dass entweder der Keimgehalt der Filtrate bei kontinuirlicher reichlicher Einschwemmung bestimmter Bakterien festgestellt wird oder bei einmaliger und periodischer Einschwemmung einer Bakterienart so, dass unmittelbar nach erfolgter reichlicher Einschwemmung solange noch die Keime im unfiltrirten Wasser reichlich suspendirt sind, die Filtrate der Untersuchung unterworfen werden. Verf. hält dies deshalb für nöthig, weil

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 25.

die Keime, die einmal auf der Filteroberfläche festgelegt sind, nicht mehr durchgespült werden können. Nach Versuchen, die Schöfer im Institute des Verf. anstellte sind die ersten Minuten nach Einschwemmung einer bestimmten Keimart die kritische Zeit für Beurtheilung des Filters. Es wurden Filter gefunden, die in den ersten Minuten nach der Einschwemmung Hunderten der Keime per cc den Durchgang gewährten, nach 15-30 Minuten aber ein ganz keimfreies Filtrat lieferten.

5. Filter, welche — wenn nach des Verf. Vorschrift verfahren wird — Filtrate geben die frei von der eingeschwemmten Bakterienart sind, sind keimdicht gegen pathogene Bakterien.

Kirchner (53) berichtigt auf Wunsch von Gruber, unter dessen Leitung die Arbeit von Prochnik entstand, ein von ihm angeführtes Citat aus der genannten Arbeit, welches nicht in dieser sich findet wohl aber in der Berkefeld'schen Preisliste angeführt war. In den inzwischen erschienenen Verhandlungen des Congresses, auf dem Prochnik jenen Vortrag hielt, sagte er, dass er ein Durchwachsen der Keime durch die Filter wohl in Folge der niedrigen Temperatur des Leitungswassers nicht beobachtete, dass dies aber bei höherer Temperatur und ununterbrochenem Betriebe sicher erfolgen werde. Verf. giebt deshalb zu, dass er Prochnik mit Unrecht vorgeworfen habe er leugne die von allen Beobachtern konstatirte Möglichkeit des Durchwachsens der Bakterien. Dagegen hält er ihm nach Prochnik's nun vorliegenden Versuchsresultaten vor, dass die Filtrate nicht keimfrei waren, wie Prochnik in seiner vorläufigen Mittheilung angab, sondern nur zum Theil keimfrei sich erwiesen, sonst bis zu 26 Keimen per cc zeigten und ein Filter ganz schlecht war. So unzuverlässig arbeitenden Filtern würde nach Verf. kein Bakteriologe vertrauen. Der Verf. findet daher, dass auch Prochnik's Arbeit in Wahrheit sein Urtheil bestätige, dass die Berkefeld-Filter ein zuverlässig keimfreies Filtrat nur kurze Zeit liefern.

Kirchner (54) hält auch hier gegen Gruber seine Ansichten aufrecht.

Miquel (71) konstatirt, dass die Biscuitporzellanfilter nach seiner ausgedehnten Erfahrung immerhin die besten existirenden sind, dass aber auch unter diesen fehlerhaft hergestellte vorkommen, von denen eins z. B. nicht einmal eine Stunde lang Flusswasser sterilisirte. Die Dauer der Sterilisationssicherheit einer Kerze hängt von der Reinheit des benutzten Wassers ab; so filtrirt das Wasser der Vanne einen Monat lang steril, während das Wasser des sehr unreinen Ourcq-Kanales kaum 48 Stunden rein durch eine Biscuitkerze filtrirt. Den Einfluss des Druckes auf das Durchdringen der Bakterien durch das Porzellan schätzt dagegen Verf. nicht so hoch. Da die Bakterien durch die Kerzenwand durch Wachsthum hindurchgelangen, so muss möglichst die Ansammlung von fäulnissfähigen

Niederschlägen auf den Kerzen vermieden werden und die Fabrikanten der Kerzen sollten diesem Umstande ihre Aufmerksamkeit zuwenden. Vielleicht ist es durch eine Hülle pulverförmiger Körper zu erreichen. Verschiedene Bakterien gelangen übrigens verschieden schnell oder gar nicht durch die Porzellanwand. Typhusbacillen gehen nicht hindurch, wohl aber die Cholerabakterien; Hefe wird von dem Filter sicher zurückgehalten.

Miquel (72) hat in Verfolg seiner in der vorigen Arbeit ausgesprochenen Hoffnung versucht Biscuitfilter zu verbessern. Er umgab ein solches mit einer 2-3 cm dicken groben Sandschicht und leitete das zulaufende, sehr schmutzige uud stagnirende Wasser (Ourcq) durch eine 7 cm hohe Schicht feinen Sand und 3 cm Thierkohle. Ein nicht so geschütztes, sterilisirtes Vergleichsexemplar zeigte schon nach 47 Stunden Bakterien im Filtrat, während das mit Sand versehene erst am 12. Tage unreines Filtrat lieferte. Dabei sank die Wasserlieferung des ersteren in 5 Tagen um die Hälfte, während das zweite nach 15 Tagen zweimal so viel Wasser als im ersten gab. Eine Verlängerung des vorgelegten Sand-Kohlerohres ergab keine Verbesserung der Resultate.

Zur **Wasserfiltration** (93) im grossen Massstabe ersetzte Fischer, der Direktor des Wormser Wasser- und Gaswerkes die Sandschichten, von denen nur die oberen Lagen wirklich ausgenutzt werden, durch aus Flusssand gebrannte Platten von 100 cm Seitenlänge, die zu zwei und zwei durch eine am Rande aufgetragene Dichtungsschicht von $1^1/_2$ cm Höhe zu einem Filterelement verbunden werden; die Hohlräume aller dieser Elemente sind an eine Rohrleitung angeschlossen. Das Bassin, in dem die Elemente stehen, wird mit Wasser gefüllt, welches dann durch die Elemente filtrirt. Jedes Element liefert 6-18 cbm in 24 Stunden. Die Anlagekosten einer solchen Filteranlage betragen höchstens 60-65 $^0/_0$ derjenigen eines guten Sandfilters. Die Reinigung ist wegen Fortfall der Sandwäsche billiger, da die Platten durch umgekehrte Einführung von Wasserleitungswasser in das Ausführungsrohr gereinigt und durch auf demselben Wege erfolgende Einführung von Dampf sterilisirt werden können. Diese Plattenfilter brauchen auch nur $^1/_{10}$ des Terrains wie ein Sandfilter.

Bourquelot und **Galippe** (30) beklagen sich über die Autoren, welche mit Stillschweigen darüber hinweggehen, dass die Verf. als die Ersten schon 1885 (Comptes rendus de la Soc. de Biologie Série VIII, t. II, p. 3) die Durchgängigkeit der porösen Bakterienfilter für parasitische Bakterien gezeigt haben.

Gautier (43) giebt hier einige interessante Daten über die Asbestporzellanfilter von Garros. Da die Asbestfasern von allen bekannten organischen und anorganischen die feinsten sind nämlich einen Durchmesser von 0,00016-0,00020 mm haben, so lässt sich daraus mechanisch ein äusserst feines Pulver herstellen, welches nachdem es mit starken Säuren gewaschen

ist, mit Wasser angefeuchtet eine plastische wie Thon formbare Masse giebt, die bei 1600° verglast, bei 1200-1300° aber ein Biscuit mit unzähligen Poren von 0,00006-0,00020 mm Durchmesser giebt. Diese Poren sind kleiner und regelmässiger als die irgend eines anderen keramischen Produktes. Aus jenem Biscuit lassen sich daher ausgezeichnete Filter herstellen, die Typhus- und Milzbrandbouillonculturen, Hefen, kranke Weine steril filtriren. Miquel konnte das an Organismen und organischen Substanzen sehr reiche Wasser des Ourcq durch solche Filter 12 Tage lang steril filtriren, während alle anderen porösen Filter unter solchen Umständen nicht länger als 48 Stunden steriles Filtrat geben. Jedoch gehen oder wachsen, wie Verf. hervorhebt, sehr kleine Organismen doch durch Asbestfilter durch, wenn man sehr schwach alkalische Flüssigkeiten, wie Blutserum, Lymphe hindurchfiltrirt. Das Filtrat fault zwar meist nicht, es entwickeln sich darin aber äusserst kleine, merkwürdige Organismen, die näher untersucht werden sollen. Für Wasserfiltration im Hause sind die Asbestfilter, besonders die nicht zu schnell filtrirenden aber doch sehr werthvoll.

Guinochet (46) findet, dass die Chamberland-Filter genannten Porzellankerzen ausgezeichnete Filtrirapparate darstellen; unter einem Druck von 20 m lassen sie keine Mikroben während 10 Tagen und nur eine geringe Anzahl während 27 Tagen passiren. Sie können in der Kälte ohne Demontiren durch eine Permanganatlösung von 1 : 1000 sterilisirt werden. Lässt man nacheinander Kaliumpermanganat und Natriumbisulfit einwirken, so werden die Kerzen vollständig von den in ihren Poren angehäuften organischen Substanzen befreit, und erlangen ihre ursprüngliche Ergiebigkeit wieder.

Um die Filter beständig in gutem Gange zu erhalten, wird folgende Vorschrift ertheilt:

1. Tägliche oberflächliche Reinigung durch Abreiben.
2. Jede Woche (bei sehr unreinem Wasser häufiger) Sterilisation durch Permanganatlösung 1 : 1000 in der Kälte.
3. Drei- oder viermal im Jahre Reinigung durch aufeinanderfolgende Behandlung mit Permanganat 5 : 1000 und Natriumbisulfitlösung 1 : 20. (Chemikerztg.)

Pukall (78) konnte aus Kaolinen verschiedener Lagerstätten recht hart gebrannte Filter herstellen, die nicht die unangenehme Eigenschaft haben so mürbe zu sein wie die Chamberland- und Berkefeld-Filter. Die Berliner kgl. Porzellanmanufaktur fertigt diese Filter in Ballonform von 50, 135 und 1000 cc Inhalt. Bei 70-72 cm äusserem Druck filtriren in der Stunde 5, 9 und 29 Liter destillirten oder frisch filtrirten Leitungswassers in diese Filter. Schwierigkeiten verursachen nur Körper, die wie Casein in Milch halbgelöst sind. Aus Leitungswasser lagert sich bei längerem Filtergebrauch ein schlüpfriger, die Filtration hindernder Schlamm ab,

der nur durch Säuren oder schwache Erhitzung zu entfernen ist. Für Bakterien sollen die Filter dicht sein. Die Filter können nicht über dem Gebläse oder dem Bunsenbrenner ohne zu springen geglüht werden, sondern nur in der Gasmuffel. (Chem. Centralbl.)

Erfahrungssätze (38) über den Betrieb von Sandfiltern sind im Reichsgesundheitsamte aufgestellt worden, aus denen wir die nicht nur für Hygiene wichtigen hier mittheilen: Da die Sandfilter ein vollkommen keimfreies Wasser nicht liefern, sondern ihre Leistungsfähigkeit im Zurückhalten von Mikroorganismen nur eine beschränkte ist, darf der Anspruch an die Filter nicht über ein bestimmtes Mass erhöht werden. Die Filtrationsgeschwindigkeit darf 100 mm in der Stunde nicht überschreiten. Undurchlässig gewordene Filter dürfen nur soweit abgetragen werden, dass eine Sandschicht von mehr als 40 cm Stärke bleibt. Das erste von einem frisch angelassenen bezw. mit frischer Sandschicht versehenen Filter ablaufende Wasser ist, weil bakterienreich, nicht in den Reinwasserbehälter bezw. die Leitung einzulassen. Die Leistung der Filter muss täglich durch bakteriologische Untersuchung überwacht werden. (Chemikerztg. Repert.)

R. Koch (56) diskutirt hier die Leistungen der Sandfilter zwar vorzugsweise in Hinblick auf die Choleraepidemien in Hamburg, Altona, Nietleben aber von so allgemeinen Gesichtspunkten aus, dass auch die Vertreter der Gährungsindustrien, die ja auch oft ein Interesse an Wasserreinigung haben, auf diese Ausführungen nachdrücklich hingewiesen seien. Er skizzirt zunächst kurz die Grundlagen der Sandfiltrationstechnik. Die eigentlich filtrirende Schicht in Sandfiltern ist die Schlammschicht, welche sich aus dem Wasser in je nach der Natur des letzteren verschieden langer Zeit auf dem Sande ablagert, und welcher also der Sand nur als Stütze dient. Es kommt beim Betrieb der Filter darauf an die Schlammschicht aus dem Wasser erst ruhig bilden zu lassen, sie während der Filtration nicht zu stören und wenn sie zu dick und wenig durchlässig geworden ist zu entfernen. Dazu kommt, dass bei der allmählichen Abnutzung der Sandschicht durch Entfernung der oberen Schichten bei der Reinigung die Dicke des Sandes nicht unter 30 cm herabgehen darf und dass die Filtrationsgeschwindigkeit etwa 100 mm in der Stunde betragen muss, um möglichst vollständige Reinigung des Wassers zu erzielen. Störungen im Filterbetrieb durch Verstoss gegen diese Regeln sind durch regelmässige bakteriologische Kontrolle aufzudecken. Die beim Filtriren verbleibende kleine Zahl von Bakterien im Wasser besteht zum grössten Theil aus harmlosen Wasserbewohnern, die den auf den unteren Schichten des Filtermaterials sitzenden Vegetationen entstammen. Ein kleiner Theil der durchgehenden Organismen stammt aber aus dem Rohwasser und dieser ist ohne erhebliche Abänderung und Vertheuerung des Filterbetriebes nicht zurückzuhalten; mit den jetzigen Einrichtungen sind wir allem Anschein nach an der Grenze der Leistungs-

fähigkeit angelangt. Beobachtungen in Altona führten zur Aufdeckung eines wichtigen Filtrationsfehlers, der sich durch plötzliches Steigen der Keimzahlen verrieth. Es zeigte sich, dass in einem Filter, aus dem das Wasser behufs Reinigung abgelassen war, die Sandschicht durch plötzlich eintretenden Frost gefroren war und das Filter auch nach Auflassen des Wassers zunächst gar nicht filtrirte, dann aber nach und nach mit 40 und endlich mit 80 mm Geschwindigkeit benutzt werden konnte. Wahrscheinlich war aber nur an einzelnen Stellen das Filter aufgethaut und es filtrirte hierdurch so stark, als ob es auf der ganzen Fläche mit 40 bezw. 80 mm funktionirt hätte. Die thatsächliche Filtrationsgeschwindigkeit war dadurch viel zu hoch geworden und dementsprechend stieg die Keimzahl stark. Ein regelrecht funktionirendes Filter darf ein Wasser mit höchstens 100 Keimen geben. Vorübergehend steigt die Keimzahl auch nach Reinigung der Filter und nach dem Sandaufschütten. Eine andere Schwierigkeit, die der Winter mit sich bringt, ist die der Entfernung des Eises von den offenen Filtern behufs Reinigung derselben. Bei verdeckten Filtern fällt dies fort, jedenfalls sind offene Filter nicht zu gross zu nehmen. Im Sommer bringt das Auftreten der Wasserblüthe auf dem Wasser eine schnelle Bildung eines schleimigen nicht mehr filtrirenden Schlammes mit sich.

Der Verf. stellt auf Grund seiner Ausführungen folgende Forderungen für Filtrationsanlagen auf:

1. Die Filtrationsgeschwindigkeit von 100 mm darf nicht überschritten werden. Jedes Filter muss daher mit einer Einrichtung zur Kontrolle der Geschwindigkeit versehen sein.
2. Jedes Filter muss täglich einmal bakteriologisch untersucht werden und die Entnahme von Proben unmittelbar am Austritt des Wassers aus dem Filter gestatten; wenn das filtrirte Wasser aus mehreren Filtern sich sofort mischt kann sonst bei der bakteriologischen Untersuchung der Fehler eines Filters durch die gute Leistung eines anderen verdeckt werden.
3. Filtrirtes Wasser mit mehr als 100 Keimen ist zu entfernen, ehe es sich mit dem gut filtrirten mischt.

Ueber die Kleinfilter aus Kieselguhr, Thonerde, Asbest, Cellulose etc. äussert sich Verf. absprechend. Sie sind hinsichtlich Keimdichtigkeit und Leistung auf die Dauer für den praktischen Gebrauch ungenügend und verlangen sehr sorgfältige Behandlung.

Kümmel (61) findet, dass das vorherige Klären des Wassers bei Sandfiltration, nicht wie Lueger behauptet, ein nur ökonomischer Prozess sondern ein bakteriologisch ausserordentlich wichtiger Vorgang ist, indem das geklärte Wasser gegenüber dem Rohwasser eine bedeutende Verminderung der Keimzahl aufweist und die Wirkung des Klärens um so grösser ist je höher der Keimgehalt des Rohwassers war. Aenderung der

Filtrirgeschwindigkeit lieferte das ganz überraschende Resultat, dass bei 50 mm Geschwindigkeit mehr Keime im filtrirten Wasser waren als bei 100, ja selbst bei 200 mm. Auch wiederholtes plötzliches Uebergehen von geringer zu hoher Filtrirgeschwindigkeit und umgekehrt brachte keine wesentliche Differenz in der Anzahl der Keime des filtrirten Wassers hervor. 1 cc Filtermaterial von der Oberfläche enthielt 4 Mill. Keime, 10 mm tiefer 1038000 Keime, 25 mm tiefer 756000, 50 mm 210000, 250 mm 98500, 500 mm 56700, an der Oberfläche der Kiesschicht 70300 und in der Kiesschicht 24800 Keime. Das kurz vorher durch das Filter gegangene Wasser enthielt weniger als 20 Keime. Ein frisch eingestelltes Filter lieferte schon nach 20 Stunden Wasser mit normalem Keimgehalt. (Chemikerztg.)

Kümmel (60) kritisirt die vom Reichsgesundheitsamt aufgestellten Thesen über Wasserfiltration (vgl. p. 31). Verf. konnte bei 50, 100 und 200 mm Filtrirgeschwindigkeit keinen Unterschied in der Bakterienzahl finden und bemängelt daher, dass 100 mm als maximale Filtrirgeschwindigkeit in der Stunde verlangt werden. Es muss vielmehr für jedes Wasser und jedes Filterwerk die günstigste Filtrirgeschwindigkeit festgestellt werden, weil diese nach dem Grade der mineralischen, vegetabilischen und animalischen Beimengungen wechselt. Betreffs These 6 bemerkt Verf., dass ein grosser Unterschied zwischen einem frisch angelassenen und einem mit einer frischen Sandschicht versehenen Filter ist. Während im ersteren Falle die Filtration schon 6-12 Stunden nach der Füllung mit Wasser zufriedenstellend wirkt, dauert im anderen Falle der abnormale Zustand nach mehreren Beobachtern 4-7 Tage. Was These 7 betrifft, so hält Verf. die tägliche Untersuchung eines jeden Filters für sehr gut, nur darf die Keimzahl nur zur Filterkontrolle und nicht zur Beurtheilung des Wassers dienen; für letztere ist nur die Art der gefundenen Bakterien massgebend. (Chemikerztg.)

Heinzelmann (48) giebt hier eine illustrirte Zusammenstellung von Anlagen zum Filtriren der Luft, wobei entweder die Luft durch Baumwollzeuge, Baumwolle oder dergl. geleitet oder auf nassem Wege durch Wasser in verschiedener Weise gereinigt wird. Auch Anlagen der letzteren Art dürften zu benutzen sein, um die Luft nicht nur von Staub sondern auch von Organismen zu befreien.

Lindner (67) betont die Nothwendigkeit bei Untersuchung von grossen Brauereiluftfiltern nicht 10-50 sondern 5-6000 Liter auf Keimfreiheit zu untersuchen. Er fand in der Luft, die durch ein Moeller'sches Filter gegangen war, in der Versuchsbrauerei z. B. per 1000 Liter Luft im Dezember 2, im Januar 20, im Februar 10, im März 100, im April 2 Keime. Im März war sehr staubiges, trocknes Wetter. Im Ganzen sind diese Resultate sehr gut. Zu bedenken ist, dass die kleinsten Keime zuerst durchgehen werden und dass unter diesen gerade die Sarcina eine Rolle spielt; Verf. fand bei jenen Filteruntersuchungen thatsächlich öfter Sarcina. Es

kann also, wenn solche kleine Zellen zu reichlich durch das Filter durchgehen, eine Sarcina-Infektion trotz des Filters zu Stande kommen.

Behrendsen (28) konstruirte einen hauptsächlich für Verbandstoffe bestimmten Dampfsterilisator, der bei 14,9 cdm Inhalt 20 Mk. kostet. Der in einem Kochtopf erzeugte Dampf strömt oben in Löcher eines Einsatzgefässes ein, aus welchem die verdrängte Luft und der Dampf unten durch ein am Boden des Einsatzes angebrachtes Rohr entweicht, welches an der oberen Oeffnung des Kochtopfes ins Freie geführt ist. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Marchal (70) giebt an, dass Eiweiss nach Zusatz von 4-5 g natronsaurem Harnstoff (?) per Liter bei 100° sterilisirt werden kann ohne zu koaguliren. Antiseptisch wirkt der Zusatz nicht, das Produkt ist ein sehr guter Nährboden. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Sabrazès und **Bazin** (80) prüfen die Angaben von d'Arsonval[1], wonach organische Flüssigkeiten mittelst Kohlensäure von 50-60 Atmosphären durch ein Thonfilter getrieben und so erst physiologisch dann physikalisch sterilisirt werden. Da die Filterkerzen Colloidsubstanzen zurückhalten, so empfiehlt d'Arsonval in gewissen Fällen die Flüssigkeiten nur physiologisch zu sterilisiren und sie in Kohlensäure von 53 Atmosphären Druck zu bringen. Die Verf. prüfen nun in Versuchen mit Bouillonkulturen von Staphylococcus pyogenes aureus, Bacillus typhi, Bacterium coli und Bacillus anthracis, ob diese auf die angegebene Weise wirklich sterilisirt werden. Sie finden, dass wenn 5 ccm Kultur bis zu 6 oder 10 Stunden einem Kohlensäuredrucke von 59-60 Atmosphären ausgesetzt wurden, dann die Bakterien weder morphologisch, noch biologisch, noch in ihrer Entwicklungsfähigkeit verändert wurden. Auch als ein Druck von 70-73 Atmosphären 2 Stunden auf Bacillus typhi oder 6 Stunden ein solcher von 66-70 A. auf Staphylococcus oder gar ein solcher von 89-94 A. 15-20 Minuten auf sporentragende Milzbrandbacillen wirkte, waren die Bakterien vermehrungsfähig und die Milzbrandbacillen virulent.

In allen Fällen wurden die Bakterien sofort nach Schluss des Versuchs übergeimpft.

Die Verf. können also die Angabe d'Arsonvals nicht bestätigen, dass ein Druck von 90 Atmosphären fast augenblicklich alle lebenden Keime tödte.

Färbemethoden.

Straus (87) konnte die Cilien von Spirillum cholerae asiat., Metschnikowi oder Finkler-Prior aber nicht anderer Formen im Leben färben, wenn er eine Oese einer 1-3 Tage alten Bouillonkultur mit einer Oese mit

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891 p. 20.

Wasser verdünnter Ziehl'scher Fuchsinlösung (1 : 3-4) mischt, Deckglas auflegt und so rasch als möglich untersucht. Viele Bakterien bewegen sich dann noch kurze Zeit und an einem der Pole dieser beweglichen Individuen sieht man dann die dünne schraubenförmige oder gewellte Geissel, die schwach blassroth gefärbt ist und in einer Reihe angeordnete intensiver gefärbte Körnchen enthält. Die unbeweglichen Individuen lassen die Cilie weniger deutlich erkennen, ausserdem findet man aber eine Anzahl losgelöster Geisseln, die sich in der Flüssigkeit lebhaft bewegen. Das wäre ja höchst merkwürdig. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Sclavo (85) empfiehlt zur Geisselfärbung das Präparat eine Minute in einer Lösung von 1 % Tannin in 50° Alkohol zu beizen, dann zu waschen, dann eine Minute in eine 5 % wässerige Lösung von Phosphor-Molybdänsäure zu legen, dann schnell in destillirtem Wasser zu waschen, dann 3-5 Minuten in leicht erwärmter Ehrlich'scher Lösung zu färben, dann zu waschen, zu trocknen und in Xylolbalsam zu bringen.

Die besten Resultate erzielt er mit dem Bacillus der blauen Milch, Proteus vulgaris und mirabilis, B. megaterium, B. mesentericus vulgatus. Nicht gefärbt werden die Cilien der Vibrionen von Koch, Metschnikoff, Finkler-Prior, Deneke und B. coli commune. Pflanzenaufgüsse pflegen eine Masse von Bakterien mit sich gut färbenden Cilien zu enthalten. (Ann. Inst. Pasteur).

Nicolle und **Morax** (74) finden Loeffler's[1] Cilienfärbeverfahren zu umständlich für leichten und schnellen Gebrauch und suchen es zu vereinfachen. Die Reaktion der Beize ist nicht das allein Wichtige, wie der Umstand zeigt, dass manche Cilien sich durchaus nicht bei einer bestimmten Reaktion färben. Das Wichtigste sind vielmehr Anwendungsdauer und Temperatur von Beize und Farblösung. Thatsächlich wird der Zusatz von Säure oder Alkali zur Beize schon häufig weggelassen und die Verf. fanden auch, dass reine Fuchsintinte zur Geisselfärbung bei verschiedenen Bakterien genügt. Die Verf. erhielten mit dem folgenden vereinfachten Verfahren der Geisselfärbung gute Resultate. Sie bringen eine kleine Menge einer frischen Agarkultur in ein Uhrschälchen mit gewöhnlichem Wasser und stellen eine homogene Suspension her; von letzterer bringen sie einen Tropfen auf ein Deckglas, welches wiederholt durch die Flamme gezogen sein muss, damit die Flüssigkeit sich nicht in isolirte Tröpfchen zusammenzieht. Es werden so Präparate erhalten, die nicht fixirt zu werden brauchen und die möglichst frei von den bei der Färbung störenden Niederschlägen sind. Als Beize verwenden sie Fuchsintinte, die mit sehr gutem ätherischem Tannin hergestellt sein muss; die Beizung wird 3-4mal wiederholt, jedes Mal 12 Sekunden bis zur Dampfentwicklung erhitzt und dann sorgfältig mit Wasser

[1]) Koch's Jahresbericht I, 1890, p. 9.

gewaschen. Beizt man zu schwach, so erscheinen die Cilien nicht gefärbt, beizt man zu stark, so bilden sich Niederschläge, die sich etwas schwerer als die Cilien färben und in den Präparaten dann sehr stören.

Die eigentliche Färbung kann mit Karbolfuchsin, mit wässerigem oder Anilin-Gentianaviolett oder ZIEHL'schem Fuchsin vorgenommen werden.

Mit ihrem Verfahren untersuchen die Verf. Cholerabakterien aus verschiedenen Epidemien und ähnliche Formen. Sie finden, dass einige dieser Arten eine Cilie, andere vier und zwar entweder zwei an jedem Ende oder vier an einem Ende oder drei an einem und eine am andern Ende haben. Cholerabakterien aus manchen Orten gehören dem ersten, solche aus anderen Städten dem zweiten Typus an. Die Formen des ersten Typus sind meist kürzer. Bacillus coli hat 6, selten 8-10, B. typhi oft 10-12. Die Cilien der ersteren Form sind zerbrechlicher. Die beigegebene Tafel zeigt hübsche Cilienabbildungen.

Klein (55) findet, dass die Geisseln der Cholerabakterien in den Flöckchen der Reiswasserstühle und des Darminhaltes ohne Beize gefärbt werden, wenn sie 5-10 Minuten in 1 Th. Anilinwassergentianaviolett (100 cc Anilinwasser, 11 cc gesättigte alkoholische Gentianaviolettlösung) und 1 Theil absolutem Alkohol gefärbt, in Wasser gewaschen und in Balsam eingeschlossen werden. Da Kulturdeckglaspräparate bei dieser Behandlung die Cilien nicht zeigen, muss nach Verf. im Darm ein beizend wirkender Stoff vorhanden sein. Die Cilien waren in seinen Präparaten oft abgerissen, zu Büscheln verfilzt; sie waren oft geschlängelt, häufig 8-12mal so lang als die Bakterien und sassen öfter zu zwei an einem Pole oder einzeln an jedem Pole, während nach LOEFFLER und Anderen die Cholerabakterien aus Kulturen nur eine Geissel tragen.

Fiocca (40) empfiehlt ein sehr einfaches Verfahren um Bakteriensporen zu färben. In eine Schale bringe man 20 ccm 10 % Ammoniaklösung, setzt 10-20 Tropfen einer alkoholischen Anilinfarbenlösung zu, erhitzt bis zur Dampfentwicklung und bringt die wie gewöhnlich präparirten Deckgläser hinein. Nach 3-5 Minuten, nur bei sehr widerstandsfähigen Sporen erst nach 10-15 Minuten hat die Färbung stattgefunden und man bringt nun die Deckgläser schnell in 20 % Schwefel- oder Salpetersäure, wäscht mit Wasser und färbt ev. mit der wässerigen Kontrastfarbe. Zur Sporenfärbung eignen sich Gentianaviolett, Fuchsin, Methylenblau, Safranin. Dies Verfahren vermeidet die unangenehmen Farbinkrustationen und geht sehr schnell. Es färben sich auch die „protoplasmatischen granulösen“ Bildungen, die den reifen Sporen vorangehen.

Verschiedenes.

Atkinson (27) empfiehlt Bakterienkolonien zu photographiren, weil Kulturen, die sich bei gewöhnlicher Beleuchtung nur wenig von dem Substrat abheben, unter Abblendung der senkrecht einfallenden Strahlen bei schiefer Beleuchtung scharfe Bilder liefern. (Bot. Centralbl.)

Brunner und **Zawadzki** (31) legen bei Zählversuchen unter die Grundfläche der Petri'schen Schale ein kreisförmiges, in 64 gleiche Theile getheiltes Schema. In einen Kreis mit dem Radius r, welcher dem der Schale gleich ist beschreiben sie 3 concentrische Kreise mit den Radien r_1 — r_3, von denen r_1 der kleinste ist. Dann muss $r_1 = \frac{r}{2}$, $r_2 = \frac{r\sqrt{2}}{2}$, $r_3 = \frac{r\sqrt{3}}{2}$ sein; die letzten beiden Werthe erhält man durch Construction, wenn mit dem Radius $\frac{r}{2}$ ein Kreis beschrieben wird. Dann ist die Seite des in diesen Kreis eingeschriebenen Quadrates $\frac{r}{2}\sqrt{2}$ und die des regulären eingeschriebenen Dreiecks $\frac{r}{2}\sqrt{3}$. Auf diese Weise kann man sich das angegebene Schema leicht herstellen, man kann es aber auch bei R. Muencke in Berlin, Luisenstrasse 58 kaufen.

Lafar (64) betont, dass die im Handel befindlichen Petri-Schalen immer einen concentrisch gewellten Boden haben, sodass die hineingegossene Gelatine eine an verschiedenen Stellen verschieden dicke Schicht bildet. Es ist daher nicht möglich, aus der Colonienzahl eines beliebig ausgewählten, 1 Quadratcentimeter grossen Stückes der Gelatineschicht die Colonienzahl der ganzen Platte zu berechnen. Man muss vielmehr innerhalb von Sektoren zählen. Verf. beschreibt daher eine zum Auszählen solcher Schalen dienende kreisförmige Platte, die durch Radien und concentrische Kreise so getheilt ist, dass jeder Theil 1 Quadratcentimeter gross ist. Zu dem Zweck ist die Platte in Sektoren von 60^0 und durch dazwischen eingeschaltete, nur bis zum engsten concentrischen Kreise gehende Linien in Sektoren von 20^0 getheilt; die concentrischen Kreise müssen die Radien 13.8, 27.6, 36.6, 43.7 mm haben, damit die von ihnen und den Radien eingeschlossenen Felder 1 Quadratcentimeter gross sind. In drei gleichmässig über die Platte vertheilten Sektoren sind ausserdem die einzelnen Felder durch Diagonalen getheilt und dienen zur Auszählung sehr dicht gesäeter Schalen. Sonst wird immer ein Sektor von 60^0 ausgezählt.

Das beschriebene Liniensystem ist auf eine Glasplatte von 10 cm Durchmesser geätzt, die dann in einen etwa 8 mm hohen Reifen aus Holz oder Messing gefasst wird, dessen Durchmesser im Lichten etwa 9,5 cm

beträgt. Bei Schalen, welche keine verflüssigenden Colonien enthalten, wird die Zählvorrichtung mit der nach unten gerichteten Theilung auf den nach oben gerichteten Boden der Petri-Schale gestülpt. Schalen mit verflüssigenden Colonien werden in die Zählvorrichtung, deren Theilung nach oben gerichtet ist, hineingesetzt. Auf diese Weise wird stets Parallaxe möglichst vermieden.

Die Zählplatte ist von F. Mollenkopf, Stuttgart Thorstrasse 10 zu beziehen.

Fermi (39) empfiehlt, um den Bakteriengehalt fester, nicht schmelzbarer Substanzen wie z. B. Käse zu bestimmen einen glatten, geraden Platindraht bis zu einer Marke in die Substanz und dann zehnmal in Gelatine einzustechen, das Verfahren mit drei Gelatineröhrchen zu wiederholen und Platten zu giessen. Die erhaltenen Zahlen stimmen ziemlich genau überein.

Um den Einfluss der Lebensprodukte zweier Bakterien auf einander zu studiren empfiehlt er U-Rohre mit Gelatine oder Agar, wobei jeder Schenkel mit einer Bakterienform inficirt wird.

Seine mit senkrecht stehenden Zahnleisten versehenen Gestelle für eine grössere Anzahl Platten hätte er nicht zu beschreiben brauchen.

Julien (51) benutzt zum Transport unfertiger Deckglaspräparate einen um einen Kork eng gewundenen Draht, der so in einer Schachtel befestigt wird, dass die Deckgläser vertikal zwischen die Drahtwindungen gesteckt werden können. Eine kleine Rolle japanischen Papieres dient als Widerlager für die Deckgläser. Um das Fixiren immer in derselben Weise auszuführen, legt Verf. die Präparate immer 5 Sekunden auf eine Platte, die sich 5 cm über einem Bunsenbrenner mit 1 cm hoher Flamme befindet. Um mehrere Deckgläser zugleich zu färben steckt Verf. sie in die Windungen eines eng gewundenen feinen Messingdrahtes und hängt diesen erst in die Flasche mit Farbe, dann in die mit Waschflüssigkeit. Um Beggiatoen und Aehnliches einzuschliessen, stellt man auf dem Objektträger durch einen Lackring eine Zelle her, in die man etwas Naphthalin und Wasser von derselben Sorte, in der sich die Beggiatoen befinden oder abgekühltes gekochtes destillirtes Wasser bringt. Hierin schrumpfen die Organismen nicht und zeigen keine abnorme Lichtbrechung. Zur Herstellung solcher Zellen wird Balsamparaffin empfohlen, welches folgendermassen herzustellen ist. Zuerst wird Balsamcement durch langsames Verdampfen des käuflichen Kanadabalsams in einer flachen Blechpfanne bei kleiner Flamme bis der Balsam bei Abkühlung Wachskonsistenz besitzt hergestellt. Dann wird $^1/_4$ Pfund Paraffin vom höchsten Schmelzpunkt zum Schmelzen erwärmt, ein Klümpchen Balsamcement zugefügt und unter häufigem Umrühren das Ganze eine Stunde gelinde erwärmt, bis die Sättigung des Paraffins mit dem Balsam sich durch lichte Gelbfärbung kundgiebt. Der Verschluss des Deckglases auf dem Lackring wird durch Paraffin bewirkt.

Lafar (63) empfiehlt für bakteriologische Zwecke z. B. zur Bestimmung des Keimgehaltes von Wasser, Milch, zum Hefezählen statt der Pipetten, in denen leicht eine ungleiche Vertheilung der Zellen während des Austropfens stattfindet, Tropfgläser, die für 20-70 ₰ per Stück von Dr. R. Muencke, Berlin NW zu beziehen sind. Bei denselben befinden sich zwei Rinnen diametral gegenüber im Flaschenhals und an der Unterseite des Stöpsels. Bei bestimmter Stöpselstellung passen diese Rinnen aufeinander und die Luft kann ein- und die Flüssigkeit aus einem Ansatz tropfenweise austreten. Nach Drehung des Stöpsels um 90^0 ist die Flasche wieder fest verschlossen.

Vignon (92) findet, dass 1 $^0/_{00}$ Sublimatlösungen an der Luft nach einiger Zeit einen Niederschlag bilden. Die folgenden Zahlen zeigen an, wie viel Quecksilber sich nach verschiedener Zeit noch im Liter der Lösung befand:

In offenem Gefäss nach 7 Tagen	0,57 g
In fast gefüllter Flasche mit eingeschliffenem Stöpsel nach 7 Tagen	0,97 „
„ 220 „	0,67 „

Da in der Praxis oft Sublimatlösungen gefärbt werden, untersucht Verf. den Einfluss der Farbstoffe auf die Zersetzung der Lösungen:

	Gewöhnliche Lösung ungefärbt	Lösung mit 0.05 g Fuchsin im Liter	Lösung mit 0.1 Indigcarmin im Liter
In offener Flasche nach 7 Tagen	0.59 g	0.67 g	0.76 g
„ geschlossener „ „ 7 „	0.96 „	0.97 „	0.98 „
„ „ „ „ 220 „	0.67 „	0.77 „	0.80 „

Die Farbstoffe, besonders das Indigcarmin verzögern also die Zersetzung etwas.

Weiter findet Verf., dass sich Lösungen, denen pro Liter 1 ccm HCl oder 10 g NaCl, NH_4Cl oder KCl zugesetzt wurden, viel länger halten. Die Dauer der Haltbarkeit sinkt mit der Zahl und Grösse der Temperaturschwankungen.

Tanret (88) hielt Sublimatlösungen (1 $^0/_{00}$) bei 13 oder 23^0 an der Luft ohne oder nur mit Papierbedeckung. Nach $6^1/_2$ Tagen fand Verf. im Gegensatz zu Vignon (vorstehendes Ref.) keine Zersetzung, auch wenn durch 200 ccm Lösung in dieser Zeit 690 Liter Luft gesaugt waren. Dagegen bildete sich ein Niederschlag von chloramidure de mercure, wenn die Luft Ammoniak enthielt und darauf will Verf. Vignon's Resultate zurückführen.

Elion (37) zieht zur Hefesporenzüchtung Thonwürfel von 2 cm Seitenlänge vor, die C. Gerhardt in Bonn liefert und die mehrmals benutzt werden können.

Wichmann (95) erwähnt hierzu, dass er schon seit 1888 Chamotte-

blöcke in Kegelform zur Askosporenkultur verwende. Die Kegelform, wie sie auch im Carlsberg-Laboratorium für die Gypsblöcke gebräuchlich ist, hat den Vorzug, dass die obere Fläche, auf der die Hefe liegt, nicht mit den Wandungen der Glasschale, in der der Block steht, in Berührung kommen und so durch Condenswasser verdorben werden kann. Die Chamotteblöcke sind gegen Wasser und Hitze sehr widerstandsfähig und können oft benutzt werden. Sie sind von R. Siebert, Wien VIII, Alserstrasse zu beziehen.

Winkler (96) bohrt zur Herstellung von Mikrotomschnitten aus lebenden Bakterienkulturen ohne Härtung in eine äusserlich sterilisirte Kartoffel eine cylindrische Höhlung, die mit Sublimat oder Chloroform sterilisirt und mit Agar oder Gelatine gefüllt und dann geimpft wird. Nach einigen Tagen kann eine solche Kartoffel mit dem Mikrotom unter Alkohol geschnitten werden. Besser als die Kartoffel bewährte sich noch das weiche Paraffin, dessen Schmelzpunkt bei 42° liegt und welches in derselben Weise behandelt wurde. Der Schnitt löst sich sehr leicht von der umschliessenden Masse, man spült ihn mit Alkohol ab oder fasst ihn mit in Alkohol getauchtem Pinsel, überträgt ihn in 70 °/₀ Alkohol, in dem die Schnitte weiss werden und beliebig lange bewahrt werden können. Zum Färben verwendet Verf. Karbolfuchsin ev. verdünnt. Verf. will solche Schnitte zum genaueren Studium des Wachsthums der Bakterien in Agar oder Gelatine benutzen. (Bot. Centralbl.)

III. Morphologie der Bakterien und Hefen.

98. **Acosta, E., y F. Grande Rossi,** Descripción de un nuevo cladothrix [Clathodrix invulnerabilis] (Crónica méd.-quirur. de la Habana 1893, no. 3). — (S. 55)

99. **Amann, P.,** Pleochroismus gefärbter Bakterienzellen. Ein Beitrag zur Theorie der Bakterienfärbung (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 775). — (S. 54)

100. **Bay, J. Ch.,** The spore-forming species of the genus Saccharomyces (American Naturalist 1893, p. 685). — (S. 42)

101. **Bütschli, O.,** Untersuchungen über mikroskopische Schäume und das Protoplasma. 4°. Mit 6 lith. T. und 23 Fig. im Text sowie e. Atlas von 19 Mikrophotographien. Leipzig 1892, Engelmann. — (S. 54)

102. **Dangeard, A.,** Sur la structure histologique des levures et leur développement (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, 1893, p. 68). — (S. 51)

103. **Fischer, Bernhard,** Ueber einen neuen bei Kahmhautpilzen beobachteten Fortpflanzungsmodus (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 653). — (S. 52)

104. **Hansen, E. Chr.,** Ueber die neuen Versuche das Genus Saccharomyces zu streichen (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 16). — (S. 44)

105. **Hansgirg, A.,** Prodromus der Algenflora von Böhmen. 2. Th., welcher die blaugrünen Algen [Myxophyceen, Cyanophyceen] nebst Nachträgen zum 1. Theil und einer systematischen Bearbeitung der in Böhmen verbreiteten saprophytischen Bakterien und Euglenen enthält. Mit dem Opiz-Preise gekrönte Arbeit. Lex. 8°. 268 pp. mit Abb. (Archiv der naturwiss. Landesdurchforschung von Böhmen Bd. VIII, No. 4 [Prag, Řivnać]).

106. **Hieronymus, G.,** Ueber die Organisation der Hefezellen. (Berichte d. bot. Gesellsch. 1893, p. 176). — (S. 50)

107. **Holm, J. Chr.,** Einige Bemerkungen anlässlich der Mittheilung P. Lindner's über das Wachsthum der Hefen auf festen Nährböden (Zeitschr. f. d. gesammte Brauwesen Bd. XVI, 1893). — (S. 44)

108. **Janssens**, Beiträge zu der Frage über den Kern der Hefezelle (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 639). — (S. 46)
109. **Krasser, F.**, Ueber den Zellkern der Hefe (Oesterreich. botan. Zeitschr. 1893, No. 1). — (S. 45)
110. **Lindner, P.**, Schizosaccharomyces Pombe n. sp., ein neuer Gährungserreger (Wochenschr. f. Brauerei 1893, No. 49). — (S. 42)
111. **Lindner, P.**, Das Wachsthum der Hefen auf festen Nährböden (Wochenschr, f. Brauerei 1893, No. 27). — (S. 44)
112. **Maddox, L.**, Remarks on some progressive phases of Spirillum volutans [1 pl.] (Journal of the Royal microscopical Society 1893, December). — (S. 54)
113. **Moeller, H.**, Weitere Mittheilungen über den Zellkern und die Sporen der Hefe (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 358). — (S. 47)
114. **Moeller, H.**, Neue Untersuchungen über den Zellkern und die Sporen der Hefen (Berichte d. botan. Gesellsch. 1893, p. 402). — (S. 48)
115. **Pasquale, A.**, Ricerche comparative sugli streptococchi (Giornale med. d. r. eserc. e. d. r. marin. 1893, p. 611).
116. **Sakharoff, N.**, Cils composés chez une bactérie trouvée dans les selles d'un cholérique (Annales de l'Inst. Pasteur t. VII, 1893, p. 550). — (S. 53)
117. **Schenk**, Ueber einen Micrococcus tetragenus concentricus in den Faeces (Allg. Wiener med. Zeitg. 1892, p. 81). — (S. 53)
118. **Schewiakoff, W.**, Ueber einen neuen bakterienähnlichen Organismus des Süsswassers [Habilitationsschrift]. Heidelberg 1893, Winter. — (S. 57)
119. **Thaxter, R.**, On the Myxobacteriaceae, a new order of Schizomycetes (Botanical Gazette vol. XVII, p. 389. [2 Plat.]). — (S. 55)

Morphologie der Hefen.

Bay (100) giebt hier eine Aufzählung der Charaktere der bis jetzt bekannt gewordenen sporenbildenden Saccharomyces-Arten, da de Toni in dem Sylloge keine Rücksicht auf die seit Hansen untersuchten Formen nahm.

Lindner (110) beschreibt einen aus ostafrikanischen Hirsebier isolirten Schizosaccharomyces Pombe. Das betreffende Bier stellte eine hellgelbe Flüssigkeit mit starkem Bodensatz dar, der aus Hirseresten, Bakterien, Schimmelpilzen und wilden Hefen bestand. Der trotz der beigemengten vielen Bakterien mit Hülfe einer weinsauer gemachten Würze schliesslich isolirte Schizosaccharomyces stellt einen morphologisch neuen Typus dar als eine sich durch Spaltung vermehrende Hefe. Sprossung kommt nicht vor, wohl aber Sporen. Die Zellenform ist cylindrisch mit

abgerundeten Enden ähnlich Oidium lactis. In den auf die doppelte Länge herangewachsenen Zellen entsteht eine Querwand, an der dann Einschnürung und Trennung stattfindet. Die zarte Querwand an der Trennungsstelle wölbt sich unter dem Druck des Zellinhaltes nach aussen und es findet hier Spitzenwachsthum statt bis wieder die Zelle die doppelte Länge erreicht hat und eine Querwand auftritt; das neue Wandstück der an der Spitze wachsenden Zelle ist nur anfänglich dünner als das alte, die Uebergangsstelle bleibt aber als ringförmiger Absatz bestehen.

Sporenbildung tritt bei dieser Hefe verhältnissmässig leicht auf, sogar schon im Würzehängetropfen, wenn die vegetative Vermehrung beendet ist, während Gyps dafür kein geeignetes Substrat ist. Andererseits beginnt selbst in gährender Flüssigkeit im Bodensatz am Schluss der Hauptgährung schon Sporenbildung. Die Zahl der Sporen schwankt zwischen 1 und 4. Auffälligerweise entstehen in Colonien, die im Hängetropfen aus einer Zelle erzogen wurden, oft nur Sporen in gruppenweise zusammenliegenden Zellen, die sich vorher nicht von den Nachbarn unterschieden. Die Spore keimt unter Anschwellung mit Bildung eines Keimschlauches von beinahe gleicher Dicke. Die Sporenhaut wird nicht gesprengt, sondern geht ohne Weiteres in die neue Haut über.

Sobald der Keimschlauch ungefähr die Länge einer gewöhnlichen vegetativen Zelle erreicht hat, theilt er sich durch eine Querwand. Die Mutterzellmembran wird meist gesprengt; in anderen Fällen treten die Sporen schon bevor sie anschwellen durch eine Oeffnung aus. Die Sporen glänzen gewöhnlich stark.

In Würze erzeugt die Spalthefe eine ziemlich kräftige Gährung, die Kräusen sind ziemlich kompakt und fast frei von Hopfenharzausscheidungen. Am Boden setzt sich eine Hefenschicht, wie bei einer Unterhefe ab. Dextrose und Rohrzucker werden von der Spalthefe ebenfalls vergohren. Hautbildungen treten weder in Würze noch in verflüssigter Gelatine auf. Auf Würzegelatine bildet die Spalthefe einen kompakten, auf der Oberfläche feingeriefelten Belag.

Bei einem Vergleich des Schizosaccharomyces mit Saccharomyces findet Verf., dass wenn bei ersterem immer die erste Querwand an der Ursprungsstelle des Keimschlauches von der Mutterzelle entstände, man diese Vermehrung als eine besondere Art von Sprossung ansehen könne. Häufig entstehe nun aber die erste Querwand schon in der Mutterzelle, so dass auch ein Theil der Wand der letzteren an die junge Zelle abgegeben werde, was bei Saccharomyces nicht vorkommen kann und dies ist nach Verf. ein wesentlicher Unterschied. Im Vergleich mit den Spaltpilzen hebt Verf. hervor, dass bei diesen die ganze Mutterzellmembran nach der Spaltung der Zelle beim Wachsthum der Tochterzellen gedehnt wird, was nach dem Obengesagten bei Schizosaccharomyces nicht der Fall ist.

Lindner (111) illustrirt die von ihm schon öfter hervorgehobene Wichtigkeit der Beobachtung des Wachsthums der Heferassen auf festen Nährböden durch eine Reihe ausgezeichnet schön ausgeführter Photographien nach auf Würzegelatine gezogenen „Riesenkolonien“ von Saazer und Frohberghefe. Wichtig ist hierbei die Art der Aussaat. Verf. bringt das Aussaatmaterial als Tropfen auf die Gelatine, ohne letztere zu verletzen. Die Gelatine darf nicht durch zu langes Stehen abgetrocknet und nicht durch zu langes Sterilisiren zu weich sein. Die photographirten Kolonien waren auf Hefewasser-Dextrose, Hefewasser-Rohrzucker oder Würze mit von 6-18 $^0/_0$ steigenden Mengen Gelatine gezogen. Die Saazer Hefe zeigt reichgegliederte, in mehr oder weniger konzentrisch verlaufenden Wellen herangewachsene, die Hefe Frohberg kompakte, mehr radiär gezeichnete Riesenkolonien. Der steigende Gelatinegehalt bewirkt, dass die Kolonien gedrängter erscheinen und oberflächlich trocken und theils blendend weiss, wie verkalkt, theils bepudert aussehen.

Diese und andere Versuche mit Würze verschiedener Konzentration und mit Gelatine ohne Nährstoffzusatz zeigen, dass selbst grosse Aenderungen in der Zusammensetzung des Nährsubstrates den Wachsthumstypus einer Hefe nicht ganz verwischen können.

Weiter bietet Verf. Kolonienbilder von Saccharomyces pastorianus I, II, III, S. ellipsoideus I und II, und einige neue untergährige, von ihm isolirte Bierhefen. Hierbei erscheinen die im Winter erzogenen Kolonien kompakter, die im Sommer gewachsenen lockerer und weiter ausgreifend. In zwei Mischaussaaten der Hefen Saaz und Frohberg behielt in der einen die Saazer Hefe die Oberhand. Im Uebrigen muss auf das Original verwiesen und die Betrachtung der Photographien empfohlen werden.

Holm (107) hält es für nöthig zu bemerken, dass Lindner in seiner soeben hier besprochenen Arbeit verabsäumt habe zu sagen, dass Hansen schon früher das Wachsthum auf Gelatine zur Unterscheidung der Hefearten verwendet habe. Weiter würden die Rohrzuckerlösungen von Hansen und seinen Schülern nur als Konservirungsmittel für Hefe angewandt, nicht aber um Beobachtungen damit über die Charaktere der Hefearten zu machen. Lindner bemerkt (Wochenschr. f. Brauerei 1893 p. 1275) hierzu bezüglich des ersteren Punktes, dass er Hansen nicht erwähnt habe, weil er bei seinen Lesern das ABC der Hefeforschung als bekannt voraussetzen durfte. Auf die einzelnen Punkte der Bemerkungen von Holm gehe er nicht ein, da es sich hier entweder nur um mögliche Missverständnisse oder um Dinge, die er gar nicht einmal behauptet habe, handele.

Hansen (104) wendet sich entschieden gegen Moeller[1], der den Sporen der Saccharomyceten die Sporennatur absprechen will. Gegen die

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 40.

von Moeller angeführten Gründe, dass die vermeintlichen Sporen nicht simultan und nicht immer in derselben Zahl in einem Askus entständen, bemerkt Verf., dass diese Kriterien selbst wenn sie bei allen Askosporen wirklich zuträfen doch höchstens gegen die Askosporennatur und nicht gegen die Sporennatur der fraglichen Gebilde der Saccharomyceten sprächen. Verf. betont dagegen mit Recht nachdrücklich, dass er die Keimfähigkeit und den Besitz einer Wand bei den Hefesporen nachgewiesen[1] habe und weist Moeller's gegentheiligen Befund zurück. Es giebt also unter den Hefepilzen die Gruppe Saccharomyces, welche durch den Besitz von Endosporen ausgezeichnet ist. Dieses Genus Saccharomyces wird erst zu streichen sein, wenn die Stammformen entdeckt worden sind; wann und ob dies geschehen wird, darüber lässt sich nichts Entschiedenes aussagen.

Krasser (109) konnte früher schon sich nicht zu der Annahme eines Zellkernes in der Hefezelle entschliessen, weil er in den mit Pepsin behandelten Hefezellen keine zusammenhängenden Nukleinmassen fand. Nach einer kritischen Betrachtung der neueren Arbeiten über Hefezellkerne[2] geht er zu seinen eigenen neueren Beobachtungen über und bemerkt, dass er in Presshefezellen niemals ein der Hansen-Moeller'schen Beschreibung entsprechendes Gebilde (Zellkern) dieser Autoren fand, während er dasselbe in alten Bierhefezellen gefunden zu haben glaubt. Gestaltsveränderungen waren daran aber auch in mehreren Stunden nicht zu bemerken. Vergleichende Betrachtung der nach Moeller gefärbten und der mit Magensaft behandelten Bierhefezellen ergab, dass der von Zacharias als Zellkern gedeutete und der von Moeller gefärbte Körper identisch sind. In concentrirter Zuckerlösung kontrahirt sich derselbe sehr stark, was typische Zellkerne nicht thun. Nukleingehalt und Struktur konnte auch Verf. bei diesem Gebilde nicht nachweisen. Die in künstlich verdauten Bierhefezellen vorkommenden Körnchen sind der Hauptsache nach sicher kein Nuklein, denn sie sind auch in Zellen vorhanden, die zur Nukleindarstellung nach der Methode von Kossel verwendet worden sind. Es sind dem Verf. aber auch Bierhefen vorgekommen, in deren Plasma mikrochemisch als Nuklein anzusprechende Körnchen vorhanden waren. Meist scheint hier Nuklein diffus im Zellinhalt vertheilt zu sein; denn man kann aus Bierhefe unschwer Nuklein darstellen, aber verhältnissmässig selten Nukleinkörnchen in Bierhefe nachweisen. Anders verhält sich Presshefe. Wie Zacharias fand auch Verf. hier Nukleinkörnchen, aber kein mit dem „Zellkern“ der Bierhefe übereinstimmendes Gebilde, auch nicht mit Hülfe der Methode von Moeller.

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 35.
[2]) Ebenda II, 1891, p. 38; III, 1892 p. 37.

Auch in Presshefe kommen aber Körnchen vor, die die Nukleinreaktion nicht zeigen, auch keine Fettreaktion mit Osmiumsäure oder Cyanin geben. Nachdem RAUM fand, dass in mit 2 $^0/_0$ Ueberosmiumsäure behandelten Präparaten mit Methylenblau sich die Vakuolen der Hefezellen färben, bemerkt Verf., dass bei Bier- und Presshefe wie bei Saccharomyces ellipsoideus dasselbe nach Fixirung mit FLEMMING'scher Mischung zu beobachten ist. Dies spricht dafür, dass das auf Grund der Hämatoxylinfärbung als Zellkern von ZALEWSKI angesprochene Gebilde der Weinhefezellen richtiger, wie WIESNER es schon that, als die plasmatische Hülle der grossen Vakuole anzusehen ist.

Nach allen Autoren, ZALEWSKI ausgenommen, besitzt also der als Zellkern angesprochene Inhaltskörper der Bierhefezelle keine Struktur. Weiter enthält dieses Gebilde nach ZACHARIAS und dem Verf. kein Nuklein. Andererseits kann Nuklein makrochemisch aus Bierhefe dargestellt werden und Verf. fand manchmal Nukleinkörnchen neben dem Zellkern im Plasma. Demnach enthält der ganze Zellenleib der Bierhefe Nuklein in fein vertheilter Form und die für den Zellkern charakteristische Substanz ist in der Zelle noch nicht lokalisirt. Selbst wenn das erwähnte Gebilde einen Zellkern repräsentieren würde, so wäre es doch weder morphologisch noch chemisch ein normaler Zellkern, denn es ist strukturlos und besitzt kein oder doch nicht ausschliesslich das Nuklein. Demnach liegt bei der Bierhefe ein Archiplasma im Sinne WIESNER's vor. Dafür spricht auch die Untersuchung der Presshefe, denn hier sind zwar Nukleinkörnchen nachweisbar, aber kein Analogon zu dem mehrfach erwähnten Gebilde der Bierhefe. Verf. hält es für natürlicher den Zellenleib der Presshefe als Archiplasma zu bezeichnen, als die darin nachweisbaren Nukleinkörner als Produkte einer Kernfragmentation aufzufassen. Denn dann müsste man doch in bestimmten Entwicklungsstadien den Kern nachweisen können, durch dessen Fragmentation die Körner von Nukleinreaktion gebildet würden. Ueber das Verhalten des angeblichen Kernes der Bierhefe bei der Sprossung kann Verf. im Anschluss an RAUM und MOELLER nur bemerken, dass er bei continuirlicher Beobachtung des Gebildes bei der Sprossung keine Veränderung wahrnehmen konnte.

Janssens (108) berichtet hier vorläufig unter Hinweis auf eine ausführlichere Arbeit, die in la Cellule erscheinen soll, über Untersuchungen zur Frage nach dem Kern der Hefezelle, die er im Carlsberg-Laboratorium anstellte. Verf. gelangte mit Hülfe von theils alten, theils neuen später zu beschreibenden Methoden zu folgenden Resultaten: In allen untersuchten Hefen (S. Ludwigii HANSEN, S. cerevisiae I HANSEN, S. Pastorianus I HANSEN, Carlsberger Unterhefe I, einer obergährigen Hefe, einer Bäckereipresshefe aus einer Kopenhagener Fabrik, besonders aber den beiden ersten) sah Verf. den Kern deutlich und fand ihn ausschliesslich gefärbt. Wenn

die Zellen jung, kräftig und ruhend sind, so findet man einen Kern mit einer Membran und einem centralen, ungefähr ein Drittel des Kernes einnehmenden Körperchen. Der Kern liegt an der Zellwand; die Kernmembran ist bei S. Ludwigii nicht so fest und regelmässig gebaut, wie bei den anderen Arten. Der Rest der Zelle wird von einem cytoplasmatischen Netzwerk mit oft sehr feinen und regelmässigen Maschen angefüllt; die oft ziemlich dicken Knoten werden bei schlechter Fixirung oft allein gefärbt und sind wohl identisch mit RAUM's[1] Granulis. Ausscheidungen und Vakuolen im Innern der Zelle können den Kern stark entstellen; derselbe ist nur unter Anwendung besonderer Kunstgriffe sichtbar, wenn die Hefe in Wasser ausgehungert ist (Presshefe).

Dass bei dem Sprossen der Saccharomyceten eine kinetische Zelltheilung statthat, wird bewiesen durch die bei S. Ludwigii sich bildende Zellplatte, durch den Bau der Wand, welche später Mutter- und Tochterzelle theilt und durch die eigenthümliche Struktur, welche die Zellwand an dieser Stelle hat, nachdem die beiden Zellen sich von einander getrennt haben. Diese Wandstelle, die er auch bei echten Saccharomyceten beobachtete, nannte Verf. sterigmatische Fläche. Ausserdem beobachtet man die verschiedenen Stadien der Karyokinese direkt. Das Spindelstadium ist besonders deutlich, wenn der Kern von der Ansatzstelle der Tochterzelle entfernt liegt.

Bei der Sporenbildung ensteht der Sporenkern immer durch kinetische Theilung. Dabei entfernt sich die Kernhaut von dem inneren Körperchen und verschwindet später. Weiter erfolgt die erste Karyokinese und zwar bei Saccharomyces Ludwigii der Länge der Zelle nach, bei S. cerevisiae I gewöhnlich transversal. Das Dyasterstadium und die Aequatorialplatte sind leichter zu beobachten. Die zweite Karyokinese vollzieht sich senkrecht zur ersten und die beiden Spindeln stehen auch senkrecht zu einander. Dies ist wenigstens am häufigsten bei S. cerevisiae I. Bei S. Ludwigii ist dieses Gesetz nicht in gleicher Weise durchführbar. Die Sporen schliessen einen Kern ein, der besonders deutlich hervortritt, wenn die Sporen zwei bis drei Stunden in Wasser, dem ein wenig Würze zugesetzt worden, angeschwollen sind. Bei den Sporen des S. Ludwigii wandert bei der Keimung der Kern in das Promycelium[1].

Die Hefezelle schliesst also einen Kern ein, der sich bei der Sprossung und bei der Sporenbildung karyokinetisch vermehrt.

Moeller (113) giebt jetzt HANSEN (vgl. p. 44) zu, dass die Hefen doch endogene Sporen mit Zellkern und Membran besitzen und dass er mit Unrecht behauptet habe das Genus Saccharomyces müsse gestrichen werden, weil die Hefen keine morphologisch besonders gekennzeichneten Ent-

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 38.

wickelungsformen besässen. Er habe aus seinen damaligen[1] Untersuchungen nur folgern können Saccharomyces müsse von den Exoasceen weg zu den Fungi imperfecti gesetzt werden, aber auch diese Forderung mache seine vorliegende Untersuchung gegenstandslos. Dagegen habe er nicht die Hefen zu den Ustilagineen wieder überführen wollen, er habe nur die Gleichheit sprossender Hefe und sprossender Ustilagineen-Sporidien insofern sie nur einen Zellkern besässen behaupten wollen; in dieser Beziehung habe ihn Hansen missverstanden.

Neuerdings hat Verf. wieder gefunden, dass jede Hefezelle nur einen Zellkern hat, auch bei Presshefe trotz der Behauptung von Krasser (vergl. p. 45). Die von Janssens inzwischen vorläufig mitgetheilten Resultate (vergl. p. 46) über die Kernstruktur und die mitotische Theilung hat er bisher nicht bestätigen können.

Auch jetzt hat Verf. zum Fixiren 1 $^0/_0$ Jodkalium angewendet, beim Härten aber bessere Resultate durch Kochen in Glycerin oder Wasser (1-2 Min.) erreicht. Zum Färben benutzt er nicht mehr Gentianaviolett, sondern die Hämatoxylin-Eisenlack-Färbung nach Heidenhain, die eine intensive, leicht zu differenzirende Kernfärbung giebt. Dabei werden die Deckglaspräparate 2 Stunden in 3-4 $^0/_0$ Lösung des schwefelsauren Eisenoxyd-Ammoniaks belassen, kurz in Wasser gewaschen und $^1/_2$ Stunde in eine gesättigte Lösung von Hämatoxylin in Brunnenwasser gebracht. Die stark überfärbten Präparate werden gut ausgewaschen und zur Differenzirung unter mikroskopischer Kontrole $^1/_2$-2 Minuten in obige Eisenlösung gebracht.

Moeller (114) nimmt auch hier seine im vorigen Jahre aufgestellten Behauptungen über die Sporen der Hefen zurück. Er hat sich neuerdings selbst von der Keimung derselben überzeugt.

Er wendet sich hier weiter gegen Krasser (Ref. p. 45), der der Kenntlichmachung des Zellkerns durch Tinktion diejenige durch mikrochemische Untersuchung speziell durch Nachweis von Nuklein gegenüberstellt. Moeller weist zunächst darauf hin, dass Krasser's Gewährsmann Zacharias sich so vorsichtig, wie es bei so schwierigen Untersuchungen nothwendig ist, ausdrückt. Derselbe sage: Nuklein lässt sich auf mikrochemischem Wege in den Zellen der Bierhefe nicht nachweisen. Dass es dem Zellkern hier ganz fehlt, halte ich jedoch nicht für wahrscheinlich. Und ferner: die Sprosshefezellen besitzen also Kerne, in welchen jedoch kein Nuklein nachgewiesen werden konnte, während in den Presshefezellen nukleinhaltige Körper sichtbar zu machen sind, die sich auf Zellkerne zurückführen lassen.

Verf. erkennt überhaupt die mikrochemische Untersuchung als Beweismittel bezüglich der Kernnatur nicht an, weil die Nukleine noch zu

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 37.

wenig bekannt sind und mikrochemische Untersuchungen über den Kern, besonders über den der Thallophyten nicht ausreichend vorliegen. Er weist andererseits auch die Strukturlosigkeit als Beweis gegen die Echtheit des Zellkernes gegen Krasser zurück und betont, dass er die Hefekerne nur als strukturlos bezeichnete, weil er bei diesen ebenso wie bei den allgemein als solchen anerkannten Kernen von Algen und Pilzen mit den jetzt verfügbaren Mitteln keine Struktur fand. Er hält es für wahrscheinlich, dass bei vielen derselben später Differenzirungen gefunden werden. Gegen Krasser bemerkt Verf., dass er in Presshefen verschiedenster Herkunft stets Kerne nachgewiesen habe. Er muss danach Krasser gegenüber das Vorhandensein eines typischen Zellkerns in jeder Hefespezies und jeder Zelle ausdrücklich aufrecht erhalten.

Bei der Sporenbildung in von Hansen erhaltenem Saccharomyces cerevisiae fand Verf. neuerdings folgendes: Der normal runde Kern wird zunächst unter starker Zunahme an Substanz fädig gestreckt, es entsteht dann die bekannte Hantel-Form, die polaren Köpfe rücken an die entgegengesetzten Enden der Zelle und der verbindende Zwischenfaden reisst dann und wird eingezogen oder wenigstens unsichtbar. Meist ist der eine Kern schon an Umfang grösser geworden und stellt den Beginn der Sporenbildung dar. Mehrere Sporen in der Zelle entstehen durch Wiederholung dieses Vorganges. Zur Aufklärung seines früheren Befundes eines Kernes ausserhalb der Sporen im wandständigen Plasma findet Verf. jetzt, dass nie ein Kern ausserhalb sichtbar bleibt wenn vier Sporen ausgebildet werden. Der sonst vorhandene Kern ist also gewissermassen der Rest der unterdrückten succedanen Sporenbildung. Dieser succedanen Sporenbildung geht bei der Hefe eine einfache direkte (?) Kerntheilung voraus, wie sie sich in gleicher oder ähnlicher Weise bei der Sprossung nach Verf. früherer Mittheilung vollzieht. Dass Krasser dies an der lebenden sprossenden Zelle nicht gesehen, ist darauf zurückzuführen, dass der Kern in der lebenden Zelle überhaupt nur äusserst selten zu sehen ist.

Ganz ähnlich wie S. cerevisiae verhält sich hinsichtlich der Sporenbildung S. ellipsoideus (Würzburger Weinhefe), während eine Hefe mit wurstförmigen Zellen, die in dieser Weinhefe vorkam und die Hansen nach einem Präparat für eine Pastorianus-Form halten zu müssen glaubt, abwich. Dieselbe zeigt meist 2-4 grosse Sporen mit deutlichem Kern und Membran. Bei dieser Form fand Verf. auch bis zu 13 Sporen, will es aber dahingestellt sein lassen, ob dies echte Sporen sind, weil er den Kern in denselben noch nicht nachweisen konnte. Als er eine viersporige Zelle dieser Form in Keimungsbedingungen brachte, quollen die Sporen bis zur Berührung und verschmolzen zu einer homogenen Plasmamasse, die seitlich dann aussprosste. Fixirt, gehärtet und gefärbt erwies sich der ganze Zellinhalt als homogen, von trennenden Membranen war nichts mehr wahrzunehmen.

Eine sichere Erklärung für diese Beobachtungen bei der früh verloren gehenden Form vermag Verf. nicht anzugeben, da er damals den Sporenkern noch nicht nachzuweisen vermochte.

Als Hauptresultat seiner neueren Untersuchungen bezeichnet Verf. den sicheren Nachweis der Membranen und Kerne der Sporen. Dies wurde hauptsächlich dadurch möglich, dass er die Sporen angekeimt verwendete. In Nährlösung nehmen Bierhefesporen in 1-2 Tagen unter Substanzaufnahme an Volum stark zu und bekommen stärkeren Glanz, ohne noch auszukeimen. In solchen angekeimten Sporen gelang es leicht den Kern nachzuweisen, während dies bei ruhenden auf keine Weise möglich war. Die Heidenhain'sche Hämatoxylin-Eisenlackfärbung erlaubt ferner intensive Kernfärbung bei ganz ungefärbtem Protoplasma und färbt die Membranen, auch die Sporenwände schwach aber deutlich. Jene Einschlussgebilde der Hefe sind demnach wahre Sporen mit Kern und Membran. Ob die Saccharomyceten aber wegen dieser echten Sporenbildung in der Mutterzelle zu den Ascomyceten speziell zu den Exoasci zu rechnen sind, erscheint Verf. doch noch nicht bewiesen; er will sie lieber noch als genera incertae sedis bezeichnen.

Als Abbildungen giebt Verf. Zeichnungen nach Photographien, was als Fortschritt zu begrüssen ist (Vgl. diesen Bericht Bd. III, 1892, p. 41).

Hieronymus (106) fand in Presshefe, die in Rübenzuckerlösung oder Milch bei 25° einen Tag kultivirt Sprossgenerationen gebildet hatte bei stärkster Vergrösserung mit apochromatischen Objektiven fast völlig homogenes Plasma mit zahlreichen, eckigen, stark lichtbrechenden Körnchen, die in Reihen liegen, welche Reihen fadenförmig in einer Spirale oder einem Knäuel aufgewickelt sind. Diese Knäuel bezeichnet Verf. als Centralfaden, da er nachgewiesen zu haben glaubt, dass demselben ein protoplasmatischer Faden zu Grunde liegt. Bei Behandlung der Presshefezellen mit einer Fixirungsflüssigkeit treten auch in dem homogenen Plasma Körnchen auf, die in zu Spiralen oder Knäueln gerollten Fäden angeordnet sind. Die vorher sichtbaren eckigen Körnchen schrumpfen und rücken zusammen, manchmal so nahe, dass man einen continuirlichen, stark glänzenden Faden zu sehen glaubt. Behandelt man eine fixirte Zelle unter Deckglas mit Schneider'schem Essigkarmin, so färbt sich die Zelle bald diffus, es erscheinen aber tiefer rothe Flecken — durch die Fixirung entstandene farbstoffspeichernde Vakuolen — in der Umgebung des Centralfadens und die Grundmasse des letzteren färbt sich stärker als die im Plasma durch die Fixirung entstandenen Körnchen während die eckigen Körnchen keinen Farbstoff aufnehmen. Ersetzt man dann die Farbflüssigkeit successive durch Glycerin, Alkohol, Nelkenöl, Toluol und Canadabalsam unter Deckglas, so erscheinen die eckigen Körnchen des Centralfadens in der wenig gefärbten Grundmasse deutlich gefärbt.

Bei lebenden Zellen ist die Gestaltung des Centralfadens fast noch deutlicher zu erkennen. Derselbe ist oft zu einem oder zu zwei durch einen Faden verbundenen Knäueln aufgerollt. Zwei Centralfäden in derselben Zelle waren nicht mit Sicherheit zu konstatiren. Die eckigen Körnchen des Centralfadens haben meist die Form von Würfeln mit abgestutzten Ecken, sind aber quellbar und Verf. hält sie daher für Kristalloide. Krasser hält sie nicht für Nuklein, da sie sich auch in Hefe noch finden sollen, aus der Nukleïn nach Kossel dargestellt wurde. Der Verf. führt eine Anzahl von Beobachtungen über die Löslichkeit dieser Körnchen an, kommt aber zu dem Schluss, dass ihre chemische Natur noch unbekannt sei.

Durch Zusatz von verdünntem Kalkwasser zur lebenden Hefezelle kann man die meisten dieser Körnchen zur Ausscheidung in die Vakuole bringen, welche letztere dann ganz mit ihnen vollgestopft sein kann. Demnach scheint die Grundmasse des Centralfadens zähflüssig zu sein. Auf Zusatz von Loeffler's Methylenblau zur lebenden Hefezelle sieht man, dass Vakuolen den Farbstoff stark speichern. Letzterer erscheint am Rande, wo er mit dem Plasma in Berührung ist, blau, in der Mitte der Vakuolen roth und Verf. will hieraus auf die alkalische Reaktion des lebenden Plasmas und die saure des Zellsaftes schliessen.

Verf. bemerkt noch, dass er Hefe in einer aus Traubenzucker und Salzen komponirten Nährlösung zog und dass sie hierin ebenso üppig wie in Milch wuchs, aber sehr wenig Körnchen bildete, während sie in Milch und in Rübenzuckerlösung, in der sie schwach wächst, viel Körnchen bildet. Durch weitere Variation solcher Versuche hofft er herauszubringen, aus welchen Elementarstoffen die Hefe die Körnchen bildet.

Zum Schluss bricht Verf. eine Lanze für die Fibrillenstruktur des lebenden Plasmas. Auch das Hefeplasma besitzt nach ihm diese Struktur und es kann nach ihm zweifelhaft sein, ob zwischen dem Centralfaden und wenigstens einem Theil des umgebenden Plasmas in dieser Hinsicht ein Unterschied besteht, wobei jedoch fädigen, im Innern der Zelle liegenden Theilen die Fähigkeit zukommen würde Reservestoffe in Gestalt der eckigen Körnchen abzulagern.

Dangeard (102) spricht sich für die Anwesenheit eines Kernes in der Hefezelle aus. Er untersucht die Hefe nach dem Härten in absolutem Alkohol und Färben mit Hämatoxylin. Die Hefezellen zeigen dann unter der Membran eine stark gefärbte, dicke, dichte, homogene Plasmaschicht, die die Vakuole umgiebt. Der Kern liegt in dieser Schicht, ist in der Ruhe kugelig, hat eine deutliche Kernmembran und einen kugeligen, centralen stark gefärbten Nukleolus, während das Hyaloplasma zwischen Nukleolus und Membran ungefärbt bleibt, aber oft einige Chromatinschleifen, die an der Kernmembran anliegen, zeigt. Wenn die Zelle sprosst, so wölbt sich die von einem Stielchen getragene Papille an einem von der Lage des

Kerns der Mutterzelle nicht bestimmten Platze heraus. Der bis dahin unveränderte Kern der Mutterzelle begiebt sich dann erst an die Ansatzstelle des Stiels der Sprosszelle und theilt sich in zwei meist auf direktem Wege. Der Nukleolus theilt sich mit. Die Kerntheilung erfolgt in einer Ebene, die senkrecht zu der durch Mutter- und Tochterzelle gelegten Axe ist. Der eine Tochterkern, der dem Stielchen zunächst liegt, zieht sich dann dünn aus, schlüpft in die Tochterzelle und vergrössert sich dort. Während des Ueberganges hat er keine Membran. Der Kern der Mutterzelle begiebt sich dann zu einer neuen Sprosszelle. Wenn eine Zelle mehrere ungleich alte Sprossanlagen zeigt, so erhält jede nach der anderen auf die geschilderte Weise ihren Kern.

Fischer (103) berichtet, dass sein Assistent Dr. Brebeck bei 3 Mycoderma-Arten, von denen eine aus einem Falle von Magengährung, eine von Wein und eine von Bier stammt, eine neue Art der Fortpflanzung beobachtet habe. Man soll, wenn man junge Kahmhautzellen in Hängetropfen von Bierwürze oder Würzegelatine bringt und darunter solche auswählt, welche sich durch gewissen Glanz und bläulichen Schimmer auszeichnen, mit Oelimmersion bemerken, dass in dem Innern der Zellen ein ausserordentlich stark lichtbrechender kleiner kreisrunder Körper auftritt, der schon im Laufe weniger Minuten sich deutlich vergrössert und schliesslich einen Durchmesser von etwa 2 mm erreicht. Der von einer endogenen Spore kaum zu unterscheidende Körper verändert bald seinen Platz, nähert sich der Peripherie, wandert bald mehr nach dem Pole bald mehr nach dem Aequator und tritt endlich durch die Wandung der Zelle hindurch nach aussen, um alsdann ganz ähnlich wie ein eben abgeschnürter Spross an der Mutterzelle anliegend allmählich bis zur Grösse der ersteren heranzuwachsen, wobei der Glanz nach und nach etwas geringer wird. Der Austritt aus der Zelle erfolgt an verschiedenen Stellen, gewöhnlich vergeht etwa eine Stunde, ehe der eben sichtbar gewordene endogen entstandene Körper aus der Mutterzelle herausgetreten ist. Derselbe Vorgang kann sich an der Mutterzelle wiederholen, so dass beispielsweise einmal aus einer und derselben Zelle nach einander 3 solcher endogen entstandener Gebilde austraten. In den Tochterzellen spielt sich dann derselbe Fortpflanzungsvorgang ab. Es scheint als ob die endogen entstandenen Zellen ein höheres spezifisches Gewicht als die aus der Sprossung hervorgegangenen besitzen, denn erstere finden sich gewöhnlich vorzugsweise an den tiefsten Stellen des Hängetropfens. Während in jungen Kahmhäuten die an ihrem Glanze, ihrem bläulichen Schimmer, ihrer grösseren Schwere und ihrer eigenthümlichen Anordnung erkennbaren Zellen den durch Sprossung entstandenen glanz- und farblosen mit Vakuolen, Fetttröpfchen u. s. w. versehenen Zellen an Zahl mindestens gleichkommen, überwiegen in älteren Kahmhäuten die geschilderten glanzlosen Zellen.

Wir können nicht umhin diese Beobachtungen mit einer gewissen Dosis Skepsis aufzunehmen und eine Bestätigung derselben abzuwarten.

Morphologie der Bakterien.

Schenk (117) isolirte aus diarrhöischen Stühlen eines an chronischem Magenkatarrh leidenden Kranken einen in Tetraden angeordneten beweglichen Coccus. Derselbe wächst im Lichte schneller wie im Dunkeln, weshalb oberflächliche Rasen des Coccus der Anzahl der Tage entsprechend concentrische Ringe zeigen, indem dichtere, bei Licht am Tage gewachsene Regionen mit weniger dichten abwechseln. Bei Wachsthum im Dunkeln fehlen die Ringe.

Sakharoff (116) hat aus einem Cholerastuhl einen sporenbildenden, Megaterium-ähnlichen Bacillus asiaticus isolirt, der sehr lange spiralige Cilien besitzt, eine Eigenschaft, die bisher nur Loeffler bei einer Form fand.

In Gelatinekulturen dieses Bacillus asiaticus findet Verf. ohne Färbung sichtbare unbewegliche kurze dünne Spiralen oder solche die dicker wie die Bacillen und länger wie der Durchmesser des Mikroskopgesichtsfeldes sind. Wie diese verschiedene Dicke vermuthen lässt und die Betrachtung gefärbter Präparate beweist, sind diese dicken Spiralen aus dünnen zusammengeflochten. Beigemengte fremde Organismen sind diese Spiralen nicht, denn sie finden sich auch in Material, welches oftmals successive auf Gelatineplatten rein kultivirt wurde. Verf. fand auch Bacillen, an denen die Cilien noch festsassen. In jungen Kulturen bemerkt man Gruppen von Bacillen, die sich mit den Cilien aneinandergehängt haben und Verf. glaubt, dass die Cilien dabei sich verflechten und abbrechen.

Diese verflochtenen Cilien (Cils composés ist ein schiefer Ausdruck. Ref.) bilden sich nur auf Gelatine und deshalb ist hier Loeffler's Beizverfahren nicht anzuwenden, weil dieses die Gelatine zu stark färbt. Wenn man aber die concentrirte angesäuerte Eisenvitriollösung in der Kälte nur $^1/_2$ Minute anwendet, so dringt dieselbe nur in die Gelatine ein und wenn man dann mit Ehrlich's Fuchsin nachfärbt, so bleiben die Cilien ungefärbt auf rothem Grunde. Da aber die Cilien die Beize zwar schwerer aufnehmen aber auch fester halten als die Gelatine, so erscheinen, wenn man das leicht erwärmte Präparat 5-10 Minuten beizt, schnell mit Wasser wäscht, dann mit Ehrlich's Fuchsin färbt und schnell in einem Luftstrom trocknet, die Cilien auf schwach rothem Grunde gefärbt. Noch besser wirkt die Beize bei Zusatz eines halben Tropfens $1^0/_0$ Schwefelsäure. Präparate, in denen die Cilien den Bacillen noch anhafteten, konnte Verf. aber nicht erhalten. Die beigegebenen Phototypien geben die

beschriebenen Verhältnisse sehr undeutlich wieder; Zeichnungen wären dienlicher gewesen.

Maddox (112) beschreibt und bildet ab, dass die anfangs homogenen Individuen von Spirillum volutans später seitliche tiefe Einschnürungen bekamen, die am Ende oft ein sporenähnliches rundliches Glied abschnürten, welches manchmal die Geissel besass.

Bütschli (101) weist hier auch die Einwände A. Fischer's[1] gegen die von ihm behauptete Wabenstruktur des Bakterienplasmas zurück und führt vor Allem an, dass die von ihm aufgefundenen Strukturen auch an plasmolysirten Exemplaren zu finden seien. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Amann (99) hebt hervor, dass die optischen Eigenschaften der Bakterienmembran mit den jetzigen Hülfsmitteln nicht untersucht werden können, da dazu z. B. Schnitte durch die Bakterienzelle in verschiedener Richtung nothwendig wären. Auch Bakterien, deren Membran Cellulosereaktion giebt, wie B. aceti und Leuconostoc zeigen keine Spur von Doppelbrechung, wie sie Cellulosemembranen höherer Pflanzen erkennen lassen. Es gelang Verf. aber die doppelbrechenden Eigenschaften gewisser Bakterienmembranen auf anderem Wege zu erweisen indem er zeigt, dass z. B. mit geeigneten Farbstoffen gefärbte Milzbrandbakterien sich optisch wie ein gefärbter Baumwollfaden verhalten, pleochroitisch sind. Die Färbungsunterschiede sind aber zu gering, als dass sie direkt beobachtet werden könnten, wenn man das Präparat einfach unter Verwendung eines Analysators oder Polarisators in der Ebene des Objekttisches dreht. Man muss vielmehr ein Kalkspathprisma als Analysator über dem Okular anwenden, wobei man zwei nebeneinander liegende Bilder zum Vergleich erhält. Das vom Spiegel reflektirte Licht muss dabei durch Einschaltung einer matten Glasplatte im Kondensor depolarisirt werden.

Bei dieser Versuchsanordnung erscheinen mit Malachitgrün gefärbte Milzbrandbacillen in demjenigen Bilde, wo die Schwingungsebene des polarisirten Lichtstrahles sich senkrecht auf der Längsrichtung des Bacillus befindet dunkler gefärbt, als im anderen Bilde, wo Schwingungsebene und Längsrichtung parallel verlaufen. Bei Gram'scher Färbung zeigen die Milzbrandbacillen in dem Bilde, wo Schwingungsebene und Längsrichtung parallel verlaufen eine helle, röthlich-violette, im anderen eine dunkle, bläulich-violette Färbung, also auch einen qualitativen Unterschied. Der Milzbrandbacillus verhält sich also pleochroitisch wie eine mit Chlorzinkjod gefärbte Cellulosemembran, bei der die längere Achse der wirksamen Elasticitätsellipse parallel der Längsrichtung der Membran verläuft. Die stark pleochroitischen Krystalle des Malachitgrüns erscheinen dagegen dunkler, wenn ihre Längsachse parallel mit der Schwingungs-

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 65.

ebene der Lichtstrahlen im betreffenden Bilde verläuft. Befindet sich daher der Farbstoff in den Milzbrandbacillen im Krystallzustande, so müssen die Farbstoffkrystalle senkrecht zur Längsrichtung des Bacillus liegen.

Verf. vertheidigt daher die Ansicht, dass der vom Bacillus aufgenommene und chemisch gebundene Farbstoff sich im krystallinischen Zustande befindet. Hueppe's Einwand hiergegen, dass ja gefärbte Bakterien in der Farbe der Farbstofflösung und nicht in der der Farbstoffkrystalle erscheinen, ist nicht stichhaltig, da die Krystalle die Farbe der Lösung zeigen, wenn sie nur hinreichend dünn sind. Alle Bakterienpräparate, die mit einem Farbstoff gefärbt wurden, der im krystallisirten Zustande die Komplementärfarbe seiner Lösung zeigt, erscheinen bei geeigneter Beobachtung stets in der Farbe der Farbstoffkrystalle. Bequem ist dies zu beobachten, wenn die Beleuchtung so regulirt wird, dass kein direkter Strahl in das Objektiv tritt, also beim Arbeiten mit sehr schiefem Beleuchtungskegel oder mit Centralblende. Bei Objektiven mit sehr grossem Oeffnungswinkel muss durch Auflegen einer Blende auf die oberste Linsenfläche die Apertur reduzirt werden, damit nicht sehr schiefe Strahlen noch aufgenommen werden. Z. B. Tuberkelbacillen mit Fuchsin gefärbt erscheinen dann prachtvoll goldgrün auf dunklem Grunde. Praktisches Interesse hat dies insofern, als auf diese Weise Tuberkelbacillen schon bei 30facher Vergrösserung in starkem Lichte zu sehen sind.

Acosta und **Rossi** (98) fanden, dass eine ganze Reihe von Agargläsern mit einer Bakterienform verunreinigt war, trotzdem der Agar in der Bouillon erst während $^1/_2$ Stunde bei 110° zum Auflösen gebracht, dann zur Abscheidung der Verunreinigungen $^1/_4$ Stunde bei 120° gehalten, dann die klaren Stücke $^1/_4$ Stunde bei 120° geschmolzen und endlich nach Einfüllung in die sterilisirten Reagensgläser diese $^1/_4$ Stunde bei 120° sterilisirt waren. Die im Agar ausgewachsenen Kolonien gingen in $^1/_4$ Stunde bei $1^1/_2$ Atmosphären nicht zu Grunde, die Vermehrung beginnt aber dann erst in 6 Tagen. Bei 100° ist diese Form durch 6 diskontinuirliche Sterilisationen nicht zu tödten. Dagegen verhindern 0,5 °/$_0$ Kupfersulfat, 0,5 °/$_0$ Karbolsäure, 0,01 °/$_0$ Sublimat die Entwicklung dieses Organismus, der aber in 1 °/$_0$ Borsäure wächst. Diese interessante Form nennen Verf. wegen ihrer abnormen Resistenz Cladothrix invulnerabilis, sagen aber absolut Nichts über deren Morphologie wenigstens steht in dem mir allein zugänglichen Referate Nichts davon. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Thaxter (119) stellt eine neue Ordnung der Spaltpilze, die der Myxobakteriaceen, auf, in der die Bakterien nach einer vegetativen Periode, in der sie sich durch Zweitheilung vermehren und eine gelatinöse Grundmasse ausscheiden, Aggregate verschiedener Form bilden, in denen zuletzt die Stäbchen oder die aus ihnen hervorgehenden Kokken gruppenweise encystiert werden. Es kommen so in den einfacheren Fällen sitzende oder gestielte Träger

(Cystophoren) zustande, in welchen die Cysten (stäbchenhaltige Cysten in gallertiger Matrix bei Myxobakter, kokkenhaltige bei Myxokokkus) gebildet werden. Die am höchsten stehende Gattung Chondromyces hat gestielte Cystenträger, die auf kugeligem Köpfchen spindelförmige Cysten besitzen und äusserlich völlig den Conidienträgern höherer Pilze (Aspergillus) gleichen; die Cysten fallen auch wie die Conidien ab und werden durch den Wind verbreitet, aber sie enthalten Bacillen, aus denen das ganze Gebilde sich aufgebaut hat. Die letzteren wandern bei der Keimung aus, um neue Pseudoplasmodien zu bilden. Diese Entwickelung, die Verf. an Reinkulturen konstatierte, erinnert an den Aufbau der Akrasieen (Dictiostelium und Polysphondylium) aus Amöben. Von diesen Myxomyceten unterscheidet sich aber die Abtheilung dadurch, dass bestimmt geformte Stäbchen, die in nichts von den Bakterienstäbchen verschieden sind, sich bewegen und zur Bildung bestimmter Fruchtkörper zusammentreten.

Bei der Gattung Chondromyces B. et C. bilden die Bacillen freie Cysten (die dann selbst Bacillen enthalten). Sie sind sitzend oder entspringen einem mehr oder weniger hoch entwickelten Träger. Bei Chondromyces crocatus B. et C., der früher als Hyphomycet, Aspergillus crocatus, beschrieben wurde, aber jeglicher Hyphen entbehrt, sind die Cystenträger schlank, einfach oder verästelt bis etwa 1 mm hoch, orangefarben und endigen in kugelige Köpfchen, welche von den blass strohfarbenen, spindelförmigen Bacillencysten ringsum besetzt sind. Die Bacillen sind cylindrisch, gerade oder schwach gekrümmt. Auf faulem Stroh, Melonenschale etc. — Chondromyces aurantiacus B. et C., auf Pilzen, faulem Holze etc., hat einfache, selten gabelige, ca. 200 μ hohe, hyaline oder fleischfarbene Cystenträger mit zuletzt sitzenden, ovalen, rundlichen oder unregelmässigen, kastanienbraunen Cysten. Der Pilz ist als Stigmatella aurantiaca B. et C. vermuthlich auch Polycephalum aurantiacum Kalchbr. et Cke, Stilbum rytidospora Beck. et Broome früher zu den Hyphomyceten gestellt worden.

Chondromyces lichenicolus n. sp. lebt parasitisch auf Flechten, die er tödtet. Kolonieen röthlich, Stäbchen cylindrisch, etwas verjüngt, Cystenträger einfach, kurz, öfter fehlend, Cysten rundlich, einzeln, oft mehrere verschmelzend.

Chondromyces serpens n. sp., Cysten fleischroth, etwa 50 μ im Durchmesser, wurmförmig mit einander anastomosirend und zu einem Knäuel verschlungen, ohne Cystophor.

Myxobakter bildet grosse, rundliche, bacillenhaltige Cysten, die einzeln oder zu mehreren in einem Gallertkörper liegen. Myxobakter aureus n. sp. auf nassem Holz etc. in Sümpfen. Myxokokkus: Stäbchen dünn, gekrümmt, nach einer vegetativen Periode sitzende Cysten mit kugeligen Sporen (Kokken) bildend, die anfangs noch von Bacillen umgeben sind. Myxokokkus rubescens n. sp. mit röthlicher Stäbchenmasse bildet tropfen-

förmige, orangerothe Sporenhäufchen auf Pferdedünger. Myxokokkus virescens n. sp. gelbgrüne Sporenhäufchen auf Mist, Myxokokkus coralloides n. sp. aufrechte, verzweigte, gelappte, korallenförmige, fleischrothe Sporenmassen. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Schewiakoff (118) fand im Schlamm des Neuhofer Altrheins oberhalb Mannheim massenhaft einen dem Chromatium Okenii ähnlichen Organismus, den er Achromatium oxaliferum n. sp. nennt. Derselbe ist cylindrisch mit abgerundeten Enden und vermehrt sich durch Quertheilung; vor der Theilung beträgt die Länge der Exemplare 0,015 bis 0,043 mm bei einer Breite von 0,009 bis 0,022 mm. Es kommen auch kleinere kugelförmige Exemplare und alle Uebergänge zwischen diesen und den cylindrischen vor. Makroskopisch erscheint der Organismus in Form grauweisser Flecke auf oder häufiger unter dem Schlamm auf dem Boden der Gefässe. Die Individuen zeigen zeitweise langsame Vor- und Rückwärtsbewegungen und wälzend fortschreitende Drehungen. Cilien waren nicht nachzuweisen, wohl aber an einigen Exemplaren eine bis 0,004 mm dicke, hyaline, den Körper des Achromatium allseitig umgebende Hülle, welche der von Klebs bei Algen und Flagellaten nachgewiesenen Gallerthülle ähnelte.

Der Verf. wendet sich weiter zur Untersuchung des feineren Baues des Achromatium und findet gegen A. Fischer das bestätigt, was Buetschli bezüglich des wabigen Baues der Bakterien behauptet hat. Die Membran des Organismus wird sichtbar, wenn der Inhalt durch wasserentziehende Mittel zum Zusammenziehen gebracht wird oder durch Druck auf das Deckglas die Membran zum Platzen gebracht wird, worauf der Inhalt ausfliesst. An so isolirten Hüllen sieht man zuweilen ein zartes engmaschiges Netzwerk, dessen Knoten durch kleine punktförmige Erhebungen markirt sind. Die Hülle besteht nicht aus Cellulose und giebt mit Millon's Flüssigkeit keine besonders charakteristische Reaktion. Verf. kann daraus doch eigentlich nicht schliessen, dass die Membran aus Eiweiss besteht und wie Buetschli von Chromatium Okenii sagte „ein echtes Plasmaprodukt ist, eine äusserste, fester gewordene, aber auch chemisch veränderte Plasmaschicht". Unterhalb der Hülle liegt bei Achromatium eine 0,001 mm dicke Rindenschicht, welche im Querschnitte radiär gestellte Streifen zeigte, die auf der Flächenansicht der Hülle durch zarte Fäden verbunden sind. Demnach nimmt Verf. an, dass die Rindenschicht eine radiär gestellte Wabenlage enthält. Diese Struktur ist an lebenden Exemplaren zuweilen, besser an fixirten oder nur mit Wasserdampf getödteten oder angetrockneten Exemplaren zu sehen.

A. Fischer[1] hat bekanntlich den von Buetschli beschriebenen wabigen Bau der Rindenschicht der Bakterien für ein Kunstprodukt erklärt, her-

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 65.

vorgerufen durch Plasmolyse, bei der einzelne Plasmafäden an der Membran haften blieben. Gegen Fischer's Deutung spricht nach Verf. folgendes: 1. lässt sich bei vorsichtigem Abtödten direkt verfolgen, dass durchaus keine Contraktionen des Zellinhaltes erfolgen. 2. spricht der regelmässige Bau der Rindenschicht und die konstanten Abstände zwischen den Wabenkanten gegen die künstliche Erzeugung derselben und 3. werden bei wirklicher Plasmolyse ganz andere Bilder erzeugt indem einige radiäre Wabenkanten der Rindenschicht an der Membran haften bleiben, andere sich mit dem Plasma zurückziehen.

Der von der Rindenschicht umschlossene Centralkörper des Achromatium zeigt schön wabigen Bau und jede Wabe enthält einen, sie prall ausfüllenden, stark lichtbrechenden Inhaltskörper; in abgetödteten Exemplaren, die einige Zeit in Wasser liegen, werden die Inhaltskörper gelöst und der wabige Bau des Centralkörpers tritt dann hervor.

Im Centralkörper sind stets kleine runde Körperchen eingelagert, die sich mit Hämatoxylin rothviolett färben, zum Unterschied von dem immer blauviolett werdenden Gerüstwerk des Centralkörpers. Diese sogenannten „rothen Körner“ Buetschli's hält dieser Autor für identisch mit den stark tingirbaren Körnern, die Ernst in Bakterien nachwies und als Kerne deutete. Diese rothen Körperchen liegen bei Achromatium immer im Centralkörper, meist in den Knotenpunkten des Wabengerüstes. Sie färben sich mit manchen Färbemitteln abweichend vom Centralkörper. Nach den Reaktionen, welche sie geben, müssen diese Körner nach Verf. als Chromatinkörner angesprochen werden, die in Zellkernen nachgewiesen wurden. Den Centralkörper möchte Verf. im Anschluss an Buetschli als Zellkern, die Rindenschicht als Zellkörper ansprechen.

Die erwähnten, die Waben des Centralkörpers erfüllenden Inhaltskörper sind bei schwacher Vergrösserung stark glänzend und undurchsichtig, im isolirten Zustande erscheinen sie bei starker Vergrösserung farblos, eingeschlossen im Centralkörper gelblich. Sie liegen nicht frei in den Waben, sondern sind von einem sehr dünnen Häutchen umschlossen, welches keine Cellulosereaktion zeigt. Die Inhaltskörper sind nicht doppelbrechend; beim Druck auf das Deckglas zeigt ihr Häutchen Risse, ohne dass Inhalt austritt, letzterer ist also nicht tropfbar flüssig.

Was die chemische Natur dieser Inhaltskörper betrifft, so sind sie löslich in Wasser, verdünntem Alkohol, Säuren, Alkalien und oxydirenden Flüssigkeiten, dagegen unlöslich in absolutem Alkohol, Aether, Schwefelkohlenstoff und einigen Salzlösungen ($Hg\,Cl_2$, $Na_3\,PO_4$, $Fe\,SO_4$). Lässt man aber die abgetödteten Exemplare oder die durch Zerdrücken isolirten Inhaltskörper in Wasser liegen, so bilden sich nach etwa $^1/_2$ Stunde in unmittelbarer Nähe derselben schöne meist rhomboederähnliche oder tafelförmige Krystalle. Erstere sind zweifellos Hendyoeder, die Holzner als

Stammform des Oxalates der Pflanzenzellen nachwies, gehören also zum monoklinen System. Die Krystalle entstehen auch wenn man Jodlösung, besonders alkoholische, ruhig einwirken lässt; es bilden sich dann bei langsamer Einwirkung auch monokline prismatische Nadeln oder Drusen. Die Krystalle bestehen unzweifelhaft aus oxalsaurem Calcium, die Inhaltskörper müssen also Oxalsäure oder ihre Derivate enthalten; Oxalsäure konnte Verf. auch in ihnen mit Uranylacetat nachweisen. Verf. vermuthete dass die Inhaltskörper vielleicht aus saurem oxalsaurem Kalium beständen; er konnte mit Platinchlorid allerdings Kalium in den Achromatien nachweisen, dasselbe braucht aber noch nicht an die Oxalsäure gebunden in den Inhaltskörpern vorzukommen.

Würden demnach die Inhaltskörper $KHC_2 O_4$ oder ein anderes, wasserlösliches oxalsaures Salz enthalten, so entsteht das oxalsaure Calcium durch Wechselwirkung zwischen dem Oxalat der Inhaltskörper und einem im Organismus oder dem umgebenden Wasser enthaltenen Kalksalz. Versuche mit Ammoniumoxalat zeigten, dass im Wabengerüste, welches durch Zerdrücken von den Inhaltskörpern befreit war und unmittelbar um die Inhaltskörper herum sehr kleine Kryställchen von Calciumoxalat auftraten; die Inhaltskörper blieben aber in Ammoniumoxalat unverändert, während nach dem Durchwaschen mit Calciumnitrat sofort in den Inhaltskörpern und um dieselben herum Calciumoxalatkrystalle auftraten. Wenn nun auch diese Versuche dafür sprechen, dass das Calciumoxalat durch Wechselwirkung zwischen dem Kaliumoxalat der Inhaltskörper und einem Kalksalz des Wabengerüstes entsteht, so glaubt Verf. doch dagegen anführen zu müssen, dass die Quantität des in dem zarten Wabengerüste enthaltenen Kalksalzes nur sehr gering sein kann. Weiter spricht folgender Versuch gegen jene Wechselzersetzung: Glüht man Achromatien nach dem Antrocknen am Deckglase schwach, so erscheinen die allein übrig bleibenden Inhaltskörper etwas opaker, sind doppelbrechend geworden, bleiben nun in Wasser unverändert und lösen sich in Salz- oder Essigsäure unter Gasentwicklung auf; ebenso verhalten sich die Inhaltskörper nach starkem Glühen, nur bleibt die Gasentwicklung beim Lösen aus. Hiernach scheinen die Inhaltskörper Calcium, sehr wahrscheinlich oxalsaures zu enthalten. Dasselbe würde bei schwachem Glühen in kohlensaures Calcium, bei starkem Glühen in Calciumdioxyd übergehen.

Die sonstigen Eigenschaften der Inhaltskörper sprechen nun aber nicht dafür, dass dieselben ganz aus Calciumoxalat bestehen, sondern dass dasselbe durch eine organische Verbindung hier in Lösung gehalten wird und erst beim Abtödten des Organismus nach aussen diffundirt und auskrystallisirt. Da nach Scheibler Calciumoxalat sich in Runkelrübensaft leicht löst, so versuchte Verf. ob die fragliche organische Verbindung der Inhaltskörper ein Kohlehydrat sei, konnte aber mit α-Naphtol resp. Thy-

mol oder FEHLING'scher Lösung kein Kohlehydrat nachweisen. Nur die SACHS'sche Rohrzuckerreaktion mit Kupfersulfat gelang. Trotzdem ist möglich, dass ein Kohlehydrat anwesend ist. Als wahrscheinlich betrachtet es Verf. andererseits, dass das Calcium in Form des Salzes einer halbseitig esterificirten Oxalsäure hier vorliegt. Dieser Ester würde durch Behandlung mit Alkalien, kohlensaurem Natrium oder Säuren schnell, durch Wasser langsamer verseift werden. Die zurückgebildete Oxalsäure giebt dann das unlösliche Kalksalz, welches sich bei Verseifung mit Mineralsäuren natürlich nicht zeigt, wohl aber bei Verseifung mit Essigsäure oder Alkalien, worin sich das Calciumoxalat nicht löst. Jedenfalls enthalten die Inhaltskörper Oxalsäure und Kalk, aber nicht in Form des krystallisirten Calciumoxalates.

Verf. weist noch darauf hin, dass Oxalsäure bisher als Produkt von Bakterien noch nicht bekannt gewesen sei.

Die Vermehrung des Achromatium verläuft im Einzelnen etwas anders als die von Chromatium Okenii nach BUETSCHLI. Bei letzterer Form entsteht dicht unter der Membran ein Ring, der bis zur Oberfläche des Centralkörpers wächst; gleichzeitig beginnt der Organismus sich von aussen immer mehr einzuschnüren, wobei der äussere und innere Durchmesser jenes Ringes immer enger werden, bis eine vollkommene Durchschnürung verbunden mit Spaltung des als Scheidewand dienenden Ringes eintritt. Bei Achromatium bemerkt man keinen solchen Ring, sondern nur eine allseitige Einschnürung. Im Uebrigen verändern nur die inneren Waben des Centralkörpers bei der Theilung ihre Gestalt. Sie nehmen zu Beginn der Theilung eine längliche Form an, gehen aber gegen Ende der Theilung wieder in die hexagonale zurück. Die rothen Körner wandern gegen Beginn der Theilung fast alle in die Mitte des Centralkörpers und ordnen sich in den Knoten des Netzwerks und den parallel der Längsaxe des Organismus verlaufenden Wabenkanten an; der Centralkörper macht in diesem Stadium einen längsfaserigen Eindruck, wobei die von Chromatinkörnern erfüllten Wabenkanten „gewissermassen an Chromatinfäden verschiedener in Theilung begriffener Kerne erinnern". In in Theilung begriffenen Achromatien bemerkt man auch Theilungsstadien der Chromatinkörner ähnlich gestaltet wie die der Chlorophyllkörner. Direkt verfolgen konnte Verf. diese Zweitheilung nicht, die Zahl der Chromatinkörner nimmt aber unter Grössenabnahme während der Theilung des Organismus zu.

IV. Allgemeine Physiologie der Bakterien und Hefen.

121. **Araki, F.,** Die β-Oxybuttersäure und ihr Verhalten im Organismus (Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. XVIII, p. 1). — (S. 87)

122. **d'Arsonval, A., et A. Charrin,** Action de divers agents [pression, ozone] sur les bactéries (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 1028). — (S. 115)

123. **d'Arsonval, A., et A. Charrin,** Electricité et microbes. Action des courants induits de haute fréquence sur le bacille pyocyanique (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 467). — (S. 114)

124. **d'Arsonval, A., et A. Charrin,** Pression et microbes (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 532). — (S. 115)

125. **d'Arsonval, A., et A. Charrin,** Electricité et microbes. — Conditions expérimentales (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 764). — (S. 114)

126. **d'Arsonval, A., et A. Charrin,** Action des microbes pathogènes sur la cellule végétale (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 37). — (S. 116)

127. **d'Arsonval, A., et A. Charrin,** Concurrence vitale entre le bacille pyocyanique et la levure de bière (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 70). — (S. 116)

128. **d'Arsonval, A., et A. Charrin,** Bacille pyocyanique et levure de bière (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 121). — (S. 117)

129. **d'Arsonval, A., et A. Charrin,** Relations entre les fonctions chromogène, pathogène, antifermentative du bacille pyocyanique (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 237). — (S. 117)

130. **d'Arsonval, A., et A. Charrin,** Conditions de l'action du bacille pyocyanique sur la levure de bière (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 337). — (S. 117)

131. **Attfield, H.,** Die wahrscheinliche Zerstörung von Bakterien in verunreinigtem Flusswasser durch Infusorien (Brit. med. Journal 17. June 1893). — (S. 112)

132. **Berthelot,** Remarques sur l'échauffement et l'inflammation spon-

tanée des foins (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, 1893, p. 1039). — (S. 82)

133. **Berthelot** et **André**, Sur les matières organiques constitutives du sol végétal (Comptes rendus de l'acad. [Paris]. t. CXVI, 1893, p. 666). — (S. 82)

134. **Beyerinck, M. W.**, Ueber Athmungsfiguren beweglicher Bakterien (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 827). — (S. 75)

135. **Beyerinck, M. W.**, Bericht über meine Kulturen niederer Algen auf Nährgelatine (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 368). — (S. 83)

136. **Blum, F.**, Der Formaldehyd als Antiseptikum (Münchener med. Wochenschr. 1893, No. 32). — (S. 113)

137. **Boersch, C.**, Beitrag zur Kenntniss der Bakterien des Weines und zur Kenntniss der Hefen [Dissert.]. Erlangen 1893. — (S. 127)

138. **Boyce, R.**, and **E. Evans**, Upon the Action of Gravity on Bacterium Zopfii (Proceed. of the Royal Soc. of London vol. LIII, 1893, p. 48. Abstract [Ausführlich Vol. LIV, 1893, p. 300]). — (S. 123)

139. **Buchner, H.**, Ueber den Einfluss des Lichtes auf Bakterien und über die Selbstreinigung der Flüsse (Archiv f. Hygiene Bd. XVII, 1893, p. 179). — (S. 117)

140. **Burri, R.**, Ueber einige zum Zwecke der Artcharakterisirung anzuwendende bakteriologische Untersuchungsmethoden nebst Beschreibung von zwei neuen aus Rheinwasser isolirten Bakterien ([Dissert.] München 1893; Archiv f. Hygiene Bd. XIX, 1893, p. 1). — (S. 124)

141. **Cappelli, U.**, La chemiotassi in rapporto alla composizione dei liquidi di cultura dei batteri (Lo Sperimentale, Mem. orig. 1893, p. 187).

142. **Cavara, F.**, Sur un microorganisme zymogène de la Durra, Sorghum Caffrorum (Revue mycologique t. XV, 1893).

143. **Charrin, A.**, Variations microbiennes (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 319). — (S. 102)

144. **Charrin, A.**, Le bacille pyocyanique chez les végétaux (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVI, 1893, p. 1082). — (S. 104)

145. **Charrin, A.**, Agents atmosphériques et microbes. — Le génie épidémique autrefois et aujourd'hui (La Semaine méd. 1893, No. 54). — (S. 128)

146. **Charrin, A.**, et **A. Dissard**, Les propriétés du bacille pyocyanogène en fonction des qualités nutritives du milieu (Mém. de la soc. de biologie 1893, p. 182). — (S. 102)

147. **Christiani, H.**, Analyse bactériologique de l'air des hauteurs puisé pendant un voyage en ballon (Annales de l'Inst. Pasteur t. VII, 1893, p. 665). — (S. 128)

148. **Christmas, J. de,** Sur la valeur antiseptique de l'ozone (Annales de l'Inst. Pasteur t. VII, 1893, p. 776). — (S. 110)

149. **Cohn, F.,** Ueber thermogene Bakterien (Berichte d. botan. Gesellsch. 1893, p. 66). — (S. 81)

150. **Couteaud,** Bactériologie de la zone glaciale (Archives de méd. navale 1893, p. 119).

151. **Cramer, E.,** Die Zusammensetzung der Bakterien in ihrer Abhängigkeit vom Nährmaterial (Archiv f. Hygiene Bd. XVI, 1893, p. 151). — (S. 67)

152. **Csapodi,** Das Vegetiren der Schimmelpilze auf festen Arsenverbindungen (Kgl. Ungarische naturw. Gesellsch. zu Budapest, Fachconferenz für Botanik am 11. Oktober 1893: Botan. Centralblatt 1894, Bd. I, p. 101). — (S. 87)

153. **Dahmen, M.,** Ueber gewisse Befruchtungsvorgänge bei den Vibrionen Koch, Finkler und Prior, Metschnikoff und Deneke und die epidemiologischen Konsequenzen (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 43). — (S. 125)

154. **Damman, G. W.,** On the genera Streptothrix et Cladothrix of Cohn (Lancet 1893, p. 356).

155. **Dreyfuss, J.,** Ueber das Vorkommen von Cellulose in Bacillen, Schimmel- und anderen Pilzen (Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. XVIII, 1893 p. 358). — (S. 73)

156. **Dubois, R.,** Extinction de la luminosité du Photobacterium sarcophilum par la lumière (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 160). — (S. 128)

157. **Duclaux, E.,** Sur les analogies entre les procès de fermentation et de combustion solaire (Annales de l'Inst. Pasteur t. VII, 1893, p. 751). — (S. 85)

158. **Ernst, P.,** Ueber einen gasbildenden Anaëroben im menschlichen Körper und seine Beziehung zur Schaumleber (Virchow's Archiv f. pathol. Anatomie Bd. CXXXIII, 1893, p. 308). — (S. 85)

159. **Fremlin,** Vergleichende Studien am Bacterium coli commune verschiedener Provenienz (Archiv f. Hygiene Bd. XIX, 1893, p. 295). — (S. 87)

160. **Freudenreich, E. de,** Sur une variété particulièrement chromogène du Bacillus pyocyaneus (Annales de micrographie t. V, 1893, p. 183). — (S. 104)

161. **Freudenreich, E. de,** Des essais de désinfection par les vapeurs ammoniacales (Annales de micrographie 1893, Novembre.) — (S. 111)

162. **Gadeau de Kerville, H.,** Die leuchtenden Thiere und Pflanzen. Aus dem Französischen übersetzt von W. Marshall. 242 pp. Mit 27

in den Text gedruckten Abbildungen und einem Titelbild. [Weber's naturwissenschaftlicheBibliothek].(Leipzig1893,Weber).—(S.128)

163. **Galeotti, G.,** Ricerche biologiche sopra alcuni bacteri cromogeni (Lo Sperimentale vol. XLVI). — (S. 103)

164. **Galippe, V.,** Sur la synthèse microbienne du tartre et des calculs salivaires (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVI, 1893, p. 1085). — (S. 87)

165. **Gegner, C.,** Ueber einige Wirkungen des Formaldehyds (Münchener med. Wochenschr. 1893, No. 32.) — (S. 113)

166. **Gilbert, A., et G. Lion,** Contribution à l'étude des bactéries intestinales (Mémoires de la soc. de biologie 1893, p. 55). — (S. 88)

167. **Gorini, K.,** Anmerkung über die Cholerarothreaktion (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 790). — (S. 85)

168. **Gosio, B.,** Ueber die Wirkung von Schimmel auf die Arsenverbindungen (Archives ital. de biologie vol. XVIII, 1892, p. 253). — (S. 86)

169. **Gosio, B.,** Ricerche batteriologiche e chimiche sulle alterazione del mais (Rivista d'igiene e san. pubbl. 1893, p. 499).

170. **Gottstein, A.,** Ueber die Zerlegung des Wasserstoffsuperoxyds durch die Zellen mit Bemerkungen über eine makroskopische Reaktion für Bakterien (Virchow's Archiv f. pathol. Anatomie Bd. CXXXIII, 1893, p. 295). — (S. 118)

171. **Hauser, G.,** Ueber die Verwendung des Formalins zur Konservirung von Bakterienkulturen (Münchener med. Wochenschr. 1893, No. 30). — (S. 113)

172. **Hauser, G.,** Weitere Mittheilungen über Verwendung des Formalins zur Konservirung von Bakterienkulturen (Münchener med. Wochenschr. 1893, No. 35). — (S. 113)

173. **Heim, L.,** Zählebige Keime in Gelatine (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 649). — (S. 110)

174. **Heim, F.,** Sur un Aspergillus se développant dans les solutions de sulfate de quinine, A. quininae sp. n. (Bull. de la soc. mycologique de France t. IX, 1893, p. 239). — (S. 87)

175. **Herman,** Du pouvoir bactéricide de l'ozone (Annales de la soc. méd-chir. de Liége 1892, p. 235). — (S. 111)

176. **Hesse, W.,** Ueber die gasförmigen Stoffwechselprodukte beim Wachsthum der Bakterien (Zeitschr. f. Hygiene Bd. XV, 1893, p. 17). — (S. 79)

177. **Hesse, W.,** Ueber den Einfluss der Alkalescenz des Nährbodens auf das Wachsthum der Bakterien (Zeitschr. f. Hygiene Bd. XV, 1893, p. 183). — (S. 80)

178. **Housson, C.,** Note on the number of bacteria in the soil at different depths from the surface (Edinburgh med. Journal 1893, p. 1122). — (S. 129)

179. **Jakowski, M.,** Beiträge zur Lehre von den Bakterien des blauen Eiters, Bacillus pyocyaneus (Zeitschr. f. Hygiene Bd. XV, p. 474). — (S. 85)

180. **Karplus, J. P.,** Ueber die Entwickelung von Schwefelwasserstoff und Methylmerkaptan durch ein Harn-Bakterium (Virchow's Archiv f. path. Anat. u. Physiol. Bd. CXXXI, 1893, p. 210). — (S. 100)

181. **Krueger, S.,** Ueber den Einfluss des konstanten elektrischen Stromes auf Wachsthum und Virulenz der Bakterien (Zeitsch. f. klin. Medicin Bd. XXII, p. 190). — (S. 115)

182. **Kuprianow, J.,** Beiträge zur Biologie der Vibrionen. I u. II Mittheilung (Archiv f. Hygiene Bd. XIX, 1893, p. 282 u. 291). — (S. 84)

183. **Lafar, F.,** Ueber die vermeintliche Identität von Bacillus butyri fluorescens und Bacillus melochloros (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 807). — (S. 126)

184. **Lagrange F.,** et **Mazet,** De l'action de l'électrolyse sur les cultures de staphylocoques et de streptocoques (Journal de méd. de Bordeaux 1893, p. 393).

185. **Lamal, A.,** Altérations de la morphine sous l'action des moisissures et des bactéries aérobies (Annales de la société de méd. d'Anvers 1893, p. 193).

186. **Lehmann, K. B.,** Vorläufige Mittheilung über die Desinfection von Kleidern, Lederwaaren, Bürsten und Büchern mit Formaldehyd [Formalin] (Münchener med. Wochenschr. 1893, No. 32). — (S. 113)

187. **Lilienfeld, L.,** und **A. Monti,** Ueber die mikrochemische Lokalisation des Phosphors in den Geweben (Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. XVII, 1893, p. 410). — (S. 74)

188. **Neumann, G.,** Beiträge zur Biologie anaërobiotisch wachsender gasbildender Bakterien (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. Lex8° 10 p. mit 1 Taf.) Leipzig 1893, Freytag.

189. **Nishimura, T.,** Untersuchung über die chemische Zusammensetzung eines Wasserbacillus (Archiv f. Hygiene Bd. XVIII, 1893, p. 318). — (S. 71)

190. **Nourry, Cl.,** et **C. Michel,** Action microbicide de l'acide carbonique dans le lait (Comptes rendus de l'acad. [Paris]. t. CXV, 1892, p. 959). — (S. 110)

191. **Petri, R. J.,** und **A. Maassen,** Weitere Beiträge zur Schwefelwasserstoffbildung aerober Bakterien und kurze Angaben über Merkaptanbildung derselben (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. VIII, 1893, p. 490). — (S. 88)

192. **Phipson, L.,** Ueber die Lebensfähigkeit von Pflanzen in einer sauerstofffreien Atmosphäre und Betrachtungen über den Anfang thierischen Lebens (Chem. News vol. LXVIII, 1893, p. 259). — (S. 81)

193. **Plagge und Trapp,** Die Methoden der Fleischkonservirung (Veröffentl. aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens. Herausg. von der Med. Abth. des k. preuss. Kriegsminist. 5. Heft) 8⁰. 129 p. Berlin 1893, Hirschwald. — (S. 105)

194. **Purdie, T., und W. Walker,** Optisch aktive Aethoxybernsteinsäure (Journal of the chem. society 1892, 13. September). — (S. 87)

195. **Remy, L., et E. Sugg,** Recherches sur le bacille d'EBERTH-GAFFKY. Caractères distinctifs du bacille de la fièvre typhoide. Procédés pour le retrouver dans les eaux potables. Première partie. Du diagnostic du bacille d'EBERTH-GAFFKY et des caractères qui le distinguent des microorganismes pseudo-typhiques (Travaux du laboratoire d'hygiène et de bactériologie de l'Université de Gand vol. I, 1893, no. 2). — (S. 127)

196. **Richardson, A.,** The Action of Light in preventing putrefactive decomposition and inducing the formation of hydrogen-peroxyde in organic liquids (Journal of the chem. soc. Transactions. t. LXIII, p. 1109). — (S. 120)

197. **Roth,** Ueber das Verhalten beweglicher Mikroorganismen in strömenden Flüssigkeiten (Deutsche med. Wochenschr. 1893, No. 15). — (S. 124)

198. **Roux, G., et A. Rodet,** Coli-bacille et Bacille d'EBERTH (Le Bulletin méd. 1892, no. 39). — (S. 87)

199. **Rubner, M.,** Ueber den Modus der Schwefelwasserstoffbildung bei den Bakterien. Nach gemeinsam mit Dr. STAGNITTA-BALISTRERI und Dr. NIEMANN angestellten Versuchen (Archiv f. Hygiene Bd. XVI, 1893, p. 52). — (S. 92)

200. **Rubner, M.,** Ueber das Vorkommen von Merkaptan. Nach gemeinsam mit Dr. F. NIEMANN und Dr. STAGNITTA-BALISTRERI angestellten Versuchen (Archiv f. Hygiene Bd. XIX, 1893, p. 136). — (S. 97)

201. **Rubner, M.,** Die Wanderungen des Schwefels im Stoffwechsel der Bakterien. Nach gemeinsam mit Dr. STAGNITTA-BALISTRERI und Dr. F. NIEMANN angestellten Versuchen (Archiv f. Hygiene Bd. XVI, 1893, p. 78). — (S. 95)

202. **Russell, L.,** Non parasitic bacteria in vegetable tissue (Botanical Gazette 1893, 20 March).

203. **Russell, L.,** Bacterial investigation of the sea and its floor (Botanical Gazette 1892, 15 October).

204. **Russell, H. L.,** The bacterial flora of the Atlantic ocean in the vicinity of Woods Holl, Mass. (Botanical Gazette vol. XVIII, 1893, p. 383). — (S. 129)

205. **Schardinger,** Ueber das Vorkommen gährungerregender Spaltpilze im Trinkwasser und ihre Bedeutung für die hygienische Beurtheilung desselben (Wiener klin. Wochenschr. 1892, No. 28/29). — (S. 83)

206. **Schenk, L.,** Die Thermotaxis der Mikroorganismen und ihre Beziehung zur Erkältung (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 37). — (S. 124)
207. **Siebel, E.,** Bakteriologische Untersuchung der Luft (Mitth. des zymotechn. Instituts zu Chicago Bd. II, No. 9). — (S. 130)
208. **Sommaruga, E. v.,** Ueber Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, II (Zeitschr. f. Hygiene Bd. XV, 1893, p. 291). — (S. 83)
209. **Stagnitta-Balistreri,** Die Verbreitung der Schwefelwasserstoffbildung unter den Bakterien (Archiv f. Hygiene Bd. XVI, 1893, p. 10). — (S. 99)
210. **Stahl, J.,** Formalin (Pharm. Zeitung Bd. XXXVIII, p. 173). — (S. 113)
211. **Stettner, Th.,** Antinonnin (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen Bd. XVI, 1893). — (S. 114)
212. **Swan, P.,** On the resisting vitality of the spores of Bacillus Megaterium to the condition of dryness (Annals of Botany vol. VII, 1893, p. 153). — (S. 110)
213. **Symmers, S. C.,** Report on further observations on Bacillus viridans (British med. Journal no. 1673).
214. **Tate, G.,** The chemical history of some recently observed bacteria (Liverpool med. chir. Journal 1893, p. 100).
215. **Trapp, A.,** Die Methoden der Fleischkonservirung [Dissert.]. Berlin 1893. — (S. 105)
216. **Voges, O.,** Ueber einige im Wasser vorkommende Pigmentbakterien (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 301). — (S. 104)
217. **Ward, H. Marshall,** Further Experiments on the Action of Light on Bacillus anthracis. Paper read before the Royal Society 1893, 13. February. — (S. 122)
218. **Ward, H. Marshall,** The Action of Light on Bacteria (Proceed. of the Royal society of London vol. LIV, 1893, p. 472 [Abstract]). — (S. 123)
219. **Zörkendörfer, C.,** Ueber die im Hühnerei vorkommenden Bakterienarten nebst Vorschlägen zu rationellen Verfahren der Eikonservirung (Archiv f. Hygiene Bd. XVI, 1893, p. 369). — (S. 107)

Zusammensetzung der Bakterien.

Cramer (151)[1] hebt die grossen Verschiedenheiten hervor, die die bisherigen Autoren hinsichtlich der Zusammensetzung der Bakterien fanden

[1]) Diese Arbeit wurde schon im vorigen Jahrgange dieses Berichtes auf Grund eines Referates in einer Zeitschrift erwähnt, da mir damals das Original unzugänglich war; das benutzte Referat stellt sich inzwischen als so oberflächlich heraus, dass ich nochmals auf die Arbeit zurückkommen muss.

und stellt die Frage, ob dies auf thatsächliche Differenzen verschiedener Bakterienarten oder auf den Einfluss verschiedener Kulturbedingungen zurückzuführen ist. Er findet nun, dass derselbe Bacillus in seiner Zusammensetzung sehr von der des Nährmateriales abhängt, nachdem er früher[1] schon angab, dass der Wasser- und Aschengehalt der Bakterien nach den Wachsthumsbedingungen erheblich schwankt.

Bei Wahl des Versuchsmateriales schliesst er sporenbildende Formen aus, weil bei der Sporenbildung so tiefgreifende Veränderungen in der Zusammensetzung vor sich gehen, dass eine Untersuchung der Zusammensetzung von Sporen und vegetativen Formen nie vergleichbare Resultate liefern kann. Es wurde Fleischwasserpeptonagar als Nährboden verwandt, von dem der Bakterienüberzug leicht sauber abzutrennen ist und Werth darauf gelegt, dass die Ernte zur Zeit des Höhepunktes der Entwickelung der Bakterien vorgenommen wurde.

Der prozentische Trockensubstanzgehalt der Ernte schwankte bei Pfeiffer's Kapselbacillus und gewöhnlichem Agar um etwa 2 % und war im Mittel 12,29. Der Ernteertrag variirte nach der Zusammensetzung des Agars beträchtlich:

	1 % Pepton	5 % Pepton	5 % Traubenzucker.
Pfeiffer's Bacillus	110	171	100
Ein Wasserbacillus	100	173	288
Pneumonie-Bacillus	100	179	211
Rhinosklerombacillus	100	173	222

Abgesehen von dem Resultat für Pfeiffer's Bacillus, welches auf zu wenig Versuchen beruht, wuchsen die drei anderen Arten auf Traubenzuckeragar weitaus am üppigsten und bei 5 % Pepton auch viel besser als auf gewöhnlichem Agar.

Der Ernteertrag dieser drei Bakterien zeigt nur eine sehr bedingte Uebereinstimmung mit dem Trockensubstanzgehalt des Nährbodens, der bei 1 % Pepton 100, bei 5 % Pepton 212, bei 5 % Traubenzucker 245 war; auf den Ernteertrag wirkt jedenfalls das spezifische Wachsthumsvermögen d. h. Produktion von Säure oder Alkali, hemmende Stoffwechselpro-

[1]) Koch's Jahresbericht Bd. II, 1891, p. 85.

dukte sehr ein. Die prozentische Ausnutzung des Nährbodens schwankte zwischen 4,4 und 7,5 %.

Die physiologische und elementare Zusammensetzung der untersuchten Bakterien veranschaulichen folgende Tabellen:

	Stickstoffsubstanz			Aether-Alkohol-extrakt			Asche		
	1 % Pepton	5 % Pepton	5 % Traubenzucker	1 % Pepton	5 % Pepton	5 % Traubenzucker	1 % Pepton	5 % Pepton	5 % Traubenzucker
PFEIFFER's Bacillus	66.6	70.0	53.7	17.7	14.63	24.0	12.56	9.10	9.13
Wasserbacillus No. 28	73.1	79.6	59.0	16.9	17.83	18.4	11.42	7.79	9.20
Pneumonie-B.	71.7	79.8	63.6	10.3	11.28	22.7	13.94	10.36	7.88
Rhinosklerom B.	68.4	76.2	62.1	11.1	9.06	20.0	13.45	9.33	9.44

	1 % Pepton			5 % Pepton			5 % Traubenz.		
	C	H	N	C	H	N	C	H	N
PFEIFFER's Bacillus	51.42	7.31	12.18	50.63	6.59	12.32	49.44	6.52	9.44
No. 28	51.72	7.32	13.20	50.47	6.77	13.82	50.33	6.79	10.44
Pneumonie B.	50.95	7.18	13.28	51.37	6.71	14.25	50.55	6.92	11.05
Rhinosklerom B.	51.19	7.40	12.63	51.81	7.49	13.46	50.33	6.76	10.76

Diese Zahlen zeigen, dass von einer typischen Zusammensetzung auch ein und desselben Bacillus keine Rede sein kann, dass vielmehr je nach der Natur des Nährbodens Schwankungen bis zu 100 % vorkommen. Dabei zeigen aber doch die untersuchten, nach Verf. nahe verwandten Bakterien gewisse Unterschiede, die zu ihrer Charakterisirung verwendet werden können. Auffallend ähnlich ist der Kohlen- und Wasserstoffgehalt.

Der Verf. sucht wie das Original näher zeigt zu beweisen, dass die von ihm berechnete Stickstoffsubstanz wirklich mit Eiweiss identisch ist.

Demnach würden die von ihm untersuchten Bakterien sehr eiweissreiche Organe sein, die bis zu 80 % Eiweiss enthalten; die physiologische Breite der Eiweissschwankung, wie Verf. sich ausdrückt variirt dabei, wie die vorletzte der obigen Tabellen zeigt, im Mittel um 28 %. Die Eiweissschwankung hängt von der pro g producirter Bakterientrockensubstanz verfügbaren Menge Peptonstickstoff ab, doch ist das Verhältniss kein direktes, denn die mittleren Eiweissmengen der untersuchten Bakterien verhalten sich wie 100 : 120 : 128, die verfügbaren Stickstoffmengen aber wie 10 : 20 : 60. Mit steigender Stickstoffzufuhr scheint demnach bei gewissem Eiweissgehalte nicht mehr Stickstoff aufgenommen zu werden, oder aber vielleicht — nach starker Ammoniakbildung zu schliessen — das aufgenommene Pepton völlig in Ammoniak, Kohlensäure und Wasser zerlegt zu werden. Bemerkenswerth ist, dass üppiges Bakterienwachsthum und hoher Eiweissgehalt nicht immer zusammenfallen. Der Bacillus No. 28 wächst bei 5 % Traubenzucker dreimal so üppig wie bei 5 % Pepton, bildet aber auf letzterem Substrat 35 % Eiweiss mehr. Umgekehrt wächst Pfeiffer's Bacillus auf 5 % Peptonagar am besten und bildet auch dort am meisten Eiweiss. Bezüglich der mit Alkohol und Aether ausgezogenen Extraktstoffe ist zu bemerken, dass dieselben bei Wachsthum auf Traubenzucker beträchtlich reichlicher sich fanden und dass vielleicht bei üppigem Bakterienwachsthum gerade die Extraktstoffe eine Rolle spielen. Die Aetherextrakte, die vorwiegend Olein enthalten dürften, erscheinen bei Wachsthum auf Traubenzucker erheblich, z. B. bei Bacillus No. 28 von 2,52 und 3,37 auf 7,30 % vermehrt. Die Fettbildung geht aber hier nicht immer parallel mit der Intensität des Wachsthums, wie Nägeli und Löw für Schimmelpilze (Penicillium) fanden.

Der Aschegehalt der wasserhaltigen Bakterienmasse war bei Pfeiffer's Kapselbacillus im Mittel 1,02 %, bei den übrigen Formen liegen zu wenig Versuche vor. Der Aschengehalt der Trockensubstanz zeigt nach obiger Tabelle beträchtliche und gleichsinnige Differenzen; auf dem 1 % Peptonagar, also dem an organischen Substanzen ärmsten zeigen die Bakterien den höchsten Aschengehalt, der dagegen auf den beiden anderen Nährböden wenig schwankt. Da die Trockensubstanz des gewöhnlichen Agar 25,21, die des 5 % Peptonagar 13,37 und die des 5 % Traubenzuckeragar 10,17 % Asche enthielt, so meint Verf. dass die Bakterien sich bei nahezu gleichem Aschengehalt des Nährmaterials nach dem Verhältniss richten, in welchem organische und anorganische Substanzen zu einander stehen, so dass, wenn letztere im Nährboden prävalirt, die Bakterien mehr Asche enthalten. Also auch hier adaptiren sich die Bakterien dem Nährboden.

Im Allgemeinen findet Verf. demnach, dass selbst ein und derselbe Bacillus keine typische Zusammensetzung hat, sondern dieselbe nach der des Nährmaterials ändert; die Bakterien besitzen ein hervorragendes Vermögen

sich namentlich hinsichtlich des Eiweissgehaltes an das Nährsubstrat anzupassen. Die bis jetzt bekannten Bakterienanalysen sind daher nicht vergleichbar.

Vergleichbare Schlüsse lassen sich nur bei Beachtung folgender Vorsichtsmassregeln ziehen: 1. Gleichmässige Aussaat. 2. Nährboden von gleicher Zusammensetzung. 3. Gleiche constante Temperatur. 4. Gleiche Wachsthumsdauer (am besten entsprechend dem Wachsthumshöhepunkt). 5. Gleiche Wachsthumsformen.

Nishimura (189) untersuchte den im Marburger hygienischen Institut aus Wasser isolirten Bacillus No. 28, ein grosses unbewegliches Stäbchen, welches schon von Cramer (vgl. Ref. p. 67) chemisch studirt wurde, in Bezug auf die von Kossel als primäre bezeichneten Stoffe Eiweisskörper, Nukleine, Lecithine, Cholesterine, anorganische Körper. Die betreffende Bakterienform ist für solchen Zweck günstig, weil sie leicht zu ansehnlichen Massen auf Kartoffeln heranwächst. Es wurden im Mittel gefunden[1] in 14 Tage altem Material:

Wasser	84.37	
Trockensubstanz	15.63	
Alkoholextrakt	8.015	in Prozenten der Trockensubstanz
Aetherextrakt	0.247	
Stickstoff	11.97	
Asche	11.15	

Elementare Zusammensetzung getrockneter Bakterien auf aschefreie Substanz berechnet

C	51.83
H	6.86
N	11.43

Elementare Zusammensetzung mit Alkohol und Aether extrahirter Bakterien auf aschefreie Substanz berechnet

C	50.98
H	6.75
N	11.05
S	1.02

Die Untersuchung auf Eiweiss erschien besonders wichtig, weil nach Nencki im Mykoprotein die Bakterien einen besonderen Eiweissstoff enthalten sollen. Verf. hält das Mykoprotein zweifellos für ein unter der Einwirkung starker Reagentien entstandenes Kunstprodukt. Andererseits hat Hellmich durch indifferente Methoden ein Globulin aus Bakterien erhalten. Verf. konnte aus seinen Bakterien wegen der schleimigen Beschaffenheit der

[1]) Vgl. die früheren Jahrgänge dieses Berichtes.

Culturen keine Eiweissstoffe und keine Nukleine isoliren, schied aber aus letzteren die Nukleinbasen (Xanthin, Guanin, Adenin) ab und bestimmte sie zusammen mit den in freiem Zustande vorhandenen. Hypoxanthin war nicht nachzuweisen.

In Hefe (Reinhefe der Versuchsbrauerei Berlin) fand Verf. etwas weniger Nukleinbasen wie früher v. LEHMANN, nämlich 0,0265 % Xanthin, 0,006 % Guanin, 0,07 % Adenin und 0,071 % Hypoxanthin auf die 24,3 % betragende Trockensubstanz der Hefe bezogen.

Verf. gelang es weiter Lecithin in seinen Bakterien nachzuweisen, was bisher in Bakterien nicht gefunden wurde; nur der Nachweis von Phosphor in Tuberkelbacillen durch HAMMERSCHLAG spricht für Lecithingehalt derselben. Cholesterin konnte Verf. nur einmal mit der empfindlichen LIEBERMANN'schen Reaktion nachweisen; es scheint also nur in geringer Menge vorhanden zu sein[1]. In dem Fettsäuregemenge fand Verf. Oelsäure, Palmitin- und Stearinsäure. In der in Wasser löslichen Asche fand Verf. Schwefelsäure, Phosphorsäure, Kalium, Spuren von Chlor und alkalischen Erden, in der in Essigsäure löslichen Asche Phosphorsäure, Magnesium und Calcium. Cellulose enthielt die untersuchte Bakterienform nicht, wohl aber ein Kohlehydrat, welches durch Kochen mit Säure reduzirenden Zucker lieferte. Die Reindarstellung desselben gelang nicht, weil auch durch langes Kochen mit Kalilauge die stickstoffhaltige Substanz nicht ganz zu entfernen war, während fortwährend kleine Mengen des Kohlehydrates in Lösung gingen. Durch Abfiltriren mittelst Thonzelle wurde nach solcher langer Kalibehandlung eine schleimige Masse erhalten, die beim Fällen mit Alkohol einen weissen flockigen Bodensatz giebt, der sich in Essigsäure theilweise zu einer opalisirenden Flüssigkeit löst. Dieser lösliche Theil giebt beim Fällen mit Alkohol ein weisses, beim Reiben stark elektrisches Pulver, welches 24,7 % Asche und auf aschefreie Substanz berechnet 44,31 % C und 7,17 % H liefert, sich mit Jod nicht blau färbt und beim Kochen mit verdünnten Säuren leicht und schnell in einen Zucker übergeht, der alkalische Kupferlösung langsamer als Glykose reduzirt. Verf. glaubt doch, dass die untersuchten Bakterien ein stickstoffreies Kohlehydrat der Formel $C_6 H_{10} O_5$ enthalten. Auf Grund einer Zuckerbestimmung unter der Voraussetzung, dass dieser Zucker so stark wie Glykose reduzire, glaubt Verf., dass die trocknen Bakterien 12,2 % $C_6 H_{10} O_5$ enthalten. Das fragliche Kohlehydrat dürfte zu den Hemicellulosen (SCHULZE) gehören, die zum Unterschied von Cellulose eben mit verdünnten Säuren Zucker liefern. Dasselbe Kohlehydrat scheinen NENCKI und SCHAFFER aus Fäulnissbakterien dargestellt zu haben; sie glauben ein stickstoffhaltiges Kohlehydrat

[1]) Vgl. HAMMERSCHLAG, DZIERZGOWSKI und REKOWSKI: Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 92; III, 1892, p. 65.

erhalten zu haben. Nach vorläufigen Versuchen scheinen viele andere Bakterien dasselbe Kohlehydrat wie die vom Verf. untersuchte Form zu enthalten.

Die folgende Tabelle giebt die prozentische Zusammensetzung der Trockensubstanz der vom Verf. analysirten Bakterienart, wobei der Eiweisswerth durch Multiplication des Stickstoffgehaltes mit 6,25 erhalten wurde:

Eiweiss	63,5	
Kohlehydrat	12,2	
Aetherextrakt	5,08	
Alkoholextrakt	3,19	
Lecithin		0,68
Xanthin		0,17
Guanin		0,14
Adenin		0,08
Asche	11,15	
	95,12	

Dreyfuss (155) untersucht die Wandsubstanz verschiedener Bakterien chemisch. E. Schulze fusste auf der Angabe von Flechsig, dass nach Untersuchungen an Baumwolle die Cellulose ein Anhydrid der Dextrose sei und zeigte, dass bei allen untersuchten Pflanzen sich nach der Hydrolyse in der Celluloselösung Traubenzucker, daneben aber auch oft selbst reichlich andere Zuckerarten finden, die natürlich andere Anhydride haben, wie die Dextrose und daher von anderen Cellulosen abstammen müssen. Alle Cellulosen theilt Schulze ein in ächte, d. h. solche die in verdünnten Säuren löslich sind und in Hemicellulosen, die in verdünnter Salzsäure löslich sind. Da nun Schulze bei den unter seinen Versuchspflanzen am niedrigsten stehenden Pflanzen den Palmen vorzugsweise andere Cellulosen fand, prüfte Verf. in dieser Hinsicht die noch viel tiefer stehenden Pilze und Bakterien. Die bisherigen Autoren, die Cellulose in Bakterien fanden, wie Nencki und seine Schüler Bovet, Hammerschlag und Sieber, filtrirten durch Leinwand oder Fliesspapier und bekamen so vielleicht Cellulose in das Präparat. Vincenzi filtrirte mit Asbest und fand keine Cellulose. Der einzig sichere positive Befund ist nach Verf. der von Brown hinsichtlich der Cellulose in Bacterium xylinum.

Der Verf. erschöpfte sein Untersuchungsmaterial mit Wasser, Alkohol, Aether, 2 $^0/_0$ Salzsäure, ebensolcher Natronlauge und erhitzte den Rest nach Hoppe-Seyler mit concentrirtem Aetzkali auf 180^0. Hierbei bleibt die Cellulose vollständig unverändert, während alle anderen organischen Substanzen sich zersetzen und man hat hierin ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal der Cellulose gegen eine grosse Zahl von Kohlehydraten und andere Körper, die in der Pflanze mit der Cellulose zusammen vorkommen.

Die Masse wurde dann in verdünnter Schwefelsäure gelöst, durch Asbest filtrirt, der Rückstand sammt dem Filter bei 105° getrocknet, mit concentrirter Schwefelsäure übertropft, mit der 20fachen Menge Wasser übergossen, 1-2 Stunden erhitzt, heiss neutralisirt und eingedampft; der Syrup wurde dann mit der Trommer'schen, der Phenylhydrazin- und der Gährungsprobe auf Traubenzucker untersucht.

In dieser Weise untersuchte Verf. nun Tuberkelbakterien enthaltende verkäste Lymphdrüsen, nach Buchner's Rezept dargestellte „Reinkulturen" von Bacillus subtilis und einen aus pyelonephritischem Urin isolirten Eiterbacillus. In allen Fällen fand Verf. „ächte" Cellulose wenn auch nur in Spuren, insofern die bei der Hydrolyse erhaltene Flüssigkeit alkalische Kupferlösung reducirte und mit Phenylhydrazin Glukosazonkrystalle erhalten wurden; weil er also die Cellulose nur in sehr kleiner Menge fand, will er selbst diese Versuche nur als Vorversuche behandelt wissen. Verschiedene Cellulosen bei verschiedenen Bakterien fand Verf. nicht, betont aber die Möglichkeit, dass diese noch nachgewiesen würden, zumal er bei zwei höheren Pilzen solche Verschiedenheiten fand. Agaricus campestris besitzt nämlich eine Cellulose, die wohl hauptsächlich Dextroseanhydrid ist, während die eines Polyporus bei der Hydrolyse neben Dextrose auch Pentakohlehydrate ergab.

Nebenbei untersuchte Verf., ob vielleicht durch irgend eines der von ihm angewendeten extrahirenden Mittel die Färbbarkeit der Bakterien verändert werde. Hammerschlag zeigte schon, dass mit Alkohol, Aether und 5 % Natronlauge behandelte Tuberkelbakterien sich mit Anilinfarben nicht mehr färben und schloss daraus, dass das durch Natronlauge herausgelöste Eiweiss die Farbe binde. Verf. fand, dass die Behandlung mit Alkohol, Aether oder Salzsäure keinen Einfluss auf die Färbbarkeit hat, dass aber Bakterien und Schimmelpilze sich nach Behandlung mit Natronlauge nur an vereinzelten Stellen färben. Das aus der Kalischmelze erhaltene Cellulosepulver nimmt Anilinfarben nicht auf. Demnach hält Verf. Hammerschlag's Ansicht nicht für richtig, da Eiweiss mit Säure in Lösung gehe; er findet vielmehr, dass die Nukleine die Färbbarkeit bedingen dürften, da sie in Alkohol, Aether und verdünnter Mineralsäure unlöslich, in Natronlauge aber löslich sind.

Lilienfeld und **Monti** (187) geben an, dass in „Bakterien" mikrochemisch Phosphor nachzuweisen sei. Die von ihnen hierbei benutzte neue Methode besteht darin, dass sie die Versuchsobjekte (auch verschiedene Theile von höheren Pflanzen und Thieren) in molybdänsaures Ammoniak in salpetersaurer Lösung legten, wodurch an den Stellen, wo sich Phosphorsäure befindet diese niedergeschlagen wird. Die Fällung ist wegen ihrer gelben Farbe mikroskopisch nicht wahrnehmbar, wohl aber wenn nach dem Auswaschen des Versuchsobjektes mit Wasser durch Reduktionsmittel, spe-

ciell durch Pyrogallol aus der Molybdänsäure dunkel gefärbte, niedere Oxyde gebildet werden. Die Länge der Zeit, welche hierbei die Objekte in dem molybdänsauren Ammon verweilen müssen, hängt davon ab, in welchem Zustande die Phosphorsäure in den Geweben enthalten ist. Ist freie Phosphorsäure vorhanden, so ist die Reaktion in einem Augenblick eingetreten; ist aber die Phosphorsäure an organische Atomcomplexe gebunden, so hängt die Zeit bis zum Eintritt der Reaktion von der Festigkeit der Bindung ab. Man kann das Verfahren abkürzen, wenn man die gebundene Phosphorsäure durch Natriumcarbonat oder Barytwasser frei macht. Das Ammoniummolybdat muss dann vollständig mit Wasser ausgewaschen werden d. h. bis das Waschwasser auf Zusatz von Pyrogallol ungefärbt bleibt. Dann kommen die Präparate in eine 20 % Lösung von Pyrogallol, dürfen aber nicht zu lange darin verweilen, weil sonst die Intensität der Färbung abnimmt. Nach dem Auswaschen des Pyrogallols werden die Präparate in Wasser untersucht. Das Wasser beeinträchtigt aber auch auf die Dauer die Färbung und Glycerin entfärbt die Präparate auch sehr schnell, während sie sich nach dem Entwässern in Alkohol und Klärung in Xylol in Canadabalsam gut konserviren.

Bei dieser Behandlung färben sich die Bakterien schwach braun, woraus die Verf. wie bemerkt, schliessen, dass die Bakterien reaktionsfähigen Phosphor enthalten.

Stoffwechselprodukte etc.

Beyerinck (134) bezeichnet als Athmungsfiguren die Anordnung beweglicher Mikroorganismen unter dem Einfluss des Sauerstoffs und der übrigen Nährstoffe bei bestimmten Versuchsbedingungen. Bringt man in ein Reagensrohr einen Samen von Phaseolus vulgaris v. nanus und füllt das Rohr mit destillirtem Wasser, so saugt sich die Bohne voll Wasser, absorbirt den im Wasser gelösten Sauerstoff und lässt als Bakteriennahrung verwendbare Stoffe, darunter Zucker und Phosphate herausdiffundiren. Die auf der Bohne befindlichen Bakterien vermehren sich nun und bilden in der Umgebung derselben zunächst eine Trübung, bald entfernen sie sich aber in Folge des eintretenden Sauerstoffmangels von der Bohne und sammeln sich zu einer scharf abgesetzten dünnen Schicht, einem „Bakterienniveau“, über und unter welchem die Flüssigkeit klar bleibt. Dieses Niveau bezeichnet die Schicht, wo der von oben kommende Sauerstoff und der von der Bohne kommende Nährstoffdiffusionsstrom zusammentreffen.

Die Schärfe jenes Niveaus hängt damit zusammen, dass es immer nur aus einer einzigen und stets derselben Bakterienart besteht.

Leitet man über den Wasserspiegel Wasserstoff, so verdunstet Sauerstoff aus dem Wasser und das Niveau steigt bis zur Oberfläche, leitet man

Sauerstoff über die Wasseroberfläche, so sinkt das Niveau noch tiefer. Bringt man in das Wasser oberhalb des Niveaus einen sauerstoffabsorbirenden Körper z. B. ein keimendes Samenkorn, so steigt das Niveau, befindet sich in dem Wasser ein grüner Pflanzentheil, so steigt das Niveau im Lichte hinab, im Dunkeln hinauf.

Da das Niveau bei der oben angegebenen Versuchsanordnung durch später auf der Bohne auskeimende andere Bakterien gestört wird, ist es besser mit Reinkulturen zu arbeiten, indem man in das Reagensrohr einige Tropfen Gelatine oder Agar auf den Boden bringt, mit der Reinkultur impft und steriles Wasser aufgiesst.

Um zu beweisen, dass das über einer Bohne entstehende Niveau durch den Sauerstoff mit bestimmt wird, benutzt Verf. ein U-Rohr, auf dessen linkem Schenkel eine abgeschliffene Glasplatte lose aufliegt; dieser linke Schenkel ist ganz mit Wasser gefüllt, während der Meniskus im rechten Schenkel viel tiefer steht. Dann bildet sich das Niveau im rechten Schenkel viel näher bei der Bohne wie im linken und letzteres steigt lange Zeit, während ersteres stille steht. Hieraus ergiebt sich, dass das Niveau steigt, wenn der Sauerstoffdruck sich vermindert, wie im linken Schenkel, wo das Gas nur sehr unvollständig zutritt und dass nicht der maximale Sauerstoffdruck aufgesucht wird, welcher an der Oberfläche herrscht.

Die Form, welche bei Verwendung unsterilisirter Bohnen diese scharf abgesetzten Niveaus bildet, nennt Verf. Bacillus perlibratus eben wegen der Eigenschaft horizontale Schichten zu bilden. Der Bacillus wächst üppig, wenn man ihn in Reinkultur auf eine in Wasser sterilisirte Bohne bringt und bildet dann 3-5 μ lange, 0,2-0,5 μ breite Stäbchen, die keine Sporen bilden, unter 50^{0} sterben, bei $20\text{-}25^{0}$ am besten wachsen, keine Enzyme, keine Gase bilden, nicht gähren, Gelatine nicht verflüssigen.

Zur Erkenntniss der Ernährungsverhältnisse des B. perlibratus verwendet Verf. seine auxanographische[1] Methode. Er verwendet ausgewaschene Gelatine mit $0{,}025\,^{0}/_{0}$ Dinatriumphosphat, setzt dazu entweder Glykose als gute Kohlenstoffquelle, oder Ammonsulfat als gute Stickstoffquelle und stellt damit Glykoseplatten zur Bestimmung der verwendbaren Stickstoffquellen und Ammonsulfatplatten zur Auffindung der Kohlenstoffquellen her. Die beste Stickstoffquelle sind Ammonsalze, dann folgen Nitrate, dann Nitrite, die stark verdünnt noch verwendbar sind, dann in sehr geringem Masse Harnstoff und Pepton. Als Kohlenstoffquelle dienen besonders Glykose und Lävulose, dann Galaktose, Glycerin. Nicht assimilirt werden Maltose, Dextrin, Rohrzucker und Milchzucker. Asparagin, Ammonmalat und -acetat dienen zugleich als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle; ersteres ist vielleicht überhaupt die beste Nahrung für B. perlibratus. Ammontartrat

[1]) Archives néerlandaises t. XXIII, 1889, p. 367.

dagegen dient nicht als Kohlenstoff- sondern nur als Stickstoffquelle, was auffallend ist, da B. cyanogenus und andere verwandte Bakterien Weinsäure begierig assimiliren. Verf. findet überhaupt Weinsäure für die Diagnose vieler Bakterien nützlich.

Wenn man Samen von Lathyrus Nissolia, L. Aphaca, L. Ochrus, Vicia Faba oder Luzerne frisch aus der Schote nimmt, so erhält man ein Niveau von B. perlibratus; wurden dagegen die Samen schon einige Zeit frei aufbewahrt, so enthalten die Niveaus reichlich eine schnell verflüssigende Art, die jedenfalls massenhaft in den früher als Bacterium Termo bezeichneten Bakteriengemischen enthalten war und die Verf. Bacillus liquefaciens vulgaris oder kurz B. vulgaris nennt. Sie erinnert nach der Form und dem schwachen Fäulnissgeruch sehr an Hauser's Proteus vulgaris ohne dessen charakteristische Zoogloeenform zu besitzen. Sporen bildet die Form nicht und erregt keine Gährung.

Bezüglich der Niveaus anderer Bakterien sei auf das Original verwiesen. Es sei hier nur bemerkt, dass B. typhi und coli Doppelniveaus erzeugen, dass anaerobiotische Formen eine klare Wasserschicht nahe der Oberfläche in Folge ihres Bestrebens den Sauerstoff zu fliehen frei lassen und dass auch ganz unbewegliche Formen wie Saccharomyces Mycoderma durch Verhältnisse des specifischen Gewichts ihrer Zellen Niveaus bilden. Die letztgenannte Form bildet eine sich wochenlang haltende obere trübe Zone, die dadurch dass in ihr die Zellen zahlreicher und weniger durchsichtig als in der Tiefe sind getrübt erscheint.

Um Athmungsfiguren in Flüssigkeit zwischen Objektträger und Deckglas zu erhalten muss die Schicht dicker als bei gewöhnlichen mikroskopischen Präparaten genommen werden. Verf. legt zu dem Zwecke eine Platindrahtschlinge auf einer Seite unter das runde Deckglas und bringt soviel Flüssigkeit darunter, dass eine keilförmige Schicht bis zur Mitte des Deckglases entsteht. Die Athmungsfigur ist mikroskopisch meist nicht deutlich, wohl aber makroskopisch oder mit einer schwachen Lupe zu sehen. Die verschiedenen Athmungsfiguren auf Objektträgern bringt Verf. in folgende Gruppen:

a) Aërobientypus: Die hierhergehörigen Bakterien sind nur bei reichlichem Sauerstoffzutritt schnell beweglich und stellen bei Sauerstoffmangel die Bewegung plötzlich ein; sie suchen die Stelle grösster Sauerstoffspannung auf. Diese Eigenschaften veranlassen die Entstehung folgender Athmungsfigur unter Deckglas. Eine scharf angedeutete Randanhäufung im Meniskus (dem der Deckglasmitte zugekehrten Tropfenrande), welche aus schnell beweglichen Bakterien besteht, ist von einem aus ruhenden Bakterien gebildeten inneren Felde durch einen charakteristischen bakterienfreien Raum getrennt, in dem anfänglich noch genügend Sauerstoff vorhanden war um den Bakterien die Fortbewegung von hier nach dem Me-

niskus zu gestatten. Hierher gehören die meisten verflüssigenden Wasserbakterien, dann B. fluorescens non liquefaciens und typhi.

2. Der Spirillentypus, zu dem auch B. perlibratus gehört ist durch die hohe Empfindlichkeit für Sauerstoffspuren charakterisirt. Da die betreffenden Bakterien sich nach Verbrauch der letzten Sauerstoffspuren noch lange fortbewegen, können sie ihre optimalen Athmungsbedingungen aufsuchen, so dass eine feine scharfe Athmungslinie parallel dem freien Rande und dem Meniskus des Tropfens verlaufend entsteht. Spirillum tenue, welches auf allerlei Nährböden wächst, ist für solche Versuche sehr geeignet, zeigt aber oft eine doppelte Athmungslinie, was auf zwei Arten von Individuen, die auf verschiedene Sauerstoffspannung gestimmt sind, deutet. Bringt man einen grünen Pflanzentheil in einen Tropfen mit Bakterien vom Spirillentypus, so wandert die Athmungslinie bei Beleuchtung von dem grünen Organ weg und man kann hiernach die Beziehungen der Spektralfarben u. s. w. zur Assimilationsintensität beurtheilen.

Ein Nebentypus zum vorerwähnten ist der Vibrionentypus, zu dem B. cyanogenus, pyocyaneus und radicicola var. Fabae gehören und der dadurch ausgezeichnet ist, dass die Athmungslinie nicht so scharf abgesetzt ist.

3. Anaërobientypus. Die betreffenden Formen suchen die geringste Sauerstoffspannung auf und bilden daher eine centrale Ansammlung, in der die Bewegung noch lange fortdauert, was auf langsamen Sauerstoffverbrauch deutet; denn sonst müsste die normale Sauerstoffspannung und damit das Aufhören der Bewegung früher erreicht sein. Weitere Studien an seinem anaerobiotischen Butylferment (vgl. hinten unter „Verschiedene Gährungen") führten übrigens Verf. zu der Ueberzeugung dass auch die obligaten Anaerobien freien Sauerstoffs zur bleibenden Unterhaltung ihres Lebens bedürfen. Aber es genügt eine Spur für eine Reihe von Generationen.

Die Eigenschaften dieses Anaërobientypus studirte Verf. an dem Butylferment (Granulobacter butylicum), dem Buttersäurefermente (Gr. saccharobutyricum), die beide aus Getreidemehldekokten zu erhalten sind und einer auf Erbsen vorkommenden Form.

Als gemischten Typus schliesst Verf. hier noch den der Monaden an, den er an Chromatium Okenii und einer Chr. Warmingii Cohn nahestehenden aber kleineren Form, die regelmässig nach einander in mit Schwefelwasserstoff versetztem Grabenschlamm auftraten, untersucht. Zum Fangen der Chromatien benutzt er folgende Einrichtung. Mit chromatienhaltigem Wasser wird ein kleiner Glastrog völlig gefüllt und durch eine aufgeschliffene Glasplatte ganz von der Luft abgeschlossen. Dann wird ein eng anschliessender Blechdeckel mit einer kleinen Oeffnung darauf gebracht und es sammeln sich nun die Chromatien unter der Oeffnung im Lichte an und setzen sich an der Glasplatte fest, die nun mit den Chromatien abgenommen werden kann.

Bei beiden Chromatium-Arten sind die Individuen auf verschiedene Sauerstoffspannungen abgestimmt, je nach der Konzentration des Schwefelwasserstoffs, mit dem sie vorher in Berührung waren. Hierdurch und durch andere Umstände werden die Verhältnisse verwickelt, dürften sich aber ungefähr wie folgt verhalten.

1. Kulturen, welche mit einem Uebermass von H_2S in Kontakt sind, sowie solche wo eine Reserve von H_2S in der Lösung wie im Chromatium fehlt, nehmen Anaerobientypus an und es entstehen deshalb in allen Präparaten nach 24 Stunden centrale Ansammlungen.

2. In H_2S-freien Tropfen jedoch bei Gegenwart einer H_2S-Reserve wird scheinbar Aerobientypus angenommen, wobei es aber wegen fortwährendem Individuenwechsels zwischen Rand und Innerem nicht zu Ansammlungen kommt.

3. Bei Gegenwart einer Spur H_2S im Tropfen wird Spirillentypus angenommen.

Im Uebrigen sei auf die bezüglichen Figuren und deren Beschreibung im Original verwiesen.

Die Chromatien sind die empfindlichsten Photometer und suchen stets im weissen Licht die Stelle grösster Intensität auf. Auf dem Mikroskoptisch sammeln sie sich deshalb im Fokus des Spiegels. Als besonders interessant ist folgende Beobachtung in dieser Hinsicht zu beachten. Beobachtet man ein Chromatienpräparat unter dem Mikroskop und schiebt dann das Mikroskop in die Höhe, so sieht man die Chromatien so ringförmig angeordnet, dass der Innenraum der Ringe ebensogross wie die freie Glasfläche der Frontlinse ist, die ringförmige Ansammlung wie die der nach unten gekehrten polirten Messingfassung des Objektivs. Die ganze Erscheinung beruht darauf, dass die vom Spiegel kommenden Strahlen von der Linse nicht im gleichen Masse zurückgeworfen werden wie vom Metall der Fassung.

Hesse (176) will die Athmung der Bakterien quantitativ untersuchen. Er kultivirt dieselben zu dem Zweck in Gläsern von 50-100 cc Inhalt, die mit gut eingeschliffenem Stöpsel versehen sind. Letzterer ist mit zwei Capillarröhren versehen, deren eine tiefer in das Gefäss hinabreicht und dort zur Aufnahme von Watte erweitert ist. Die Capillaren sind mit Glashähnen verschliessbar. Sterilisirt wird, nachdem der Hahn des Watterohres verschlossen ist. Jedes Glas erhielt 25 ccm Glycerin-Agar. Anfangs mindestens täglich wird das Gasgemisch der Kulturgläser untersucht und dann letztere mit Luft oder Wasserstoff durchgewaschen. Zur Untersuchung wurden Gasproben mit der Hempel'schen Burette entnommen und in die Kali- und die Phosphorburette zur Bestimmung der Kohlensäure und des Sauerstoffs übergeführt. Der im Original abgebildete Hempel'sche Apparat gestattet mit kleinen Gasmengen zu arbeiten, die Untersuchung in $^1/_4$ Stunde auszuführen und die Reduktion auf 0^0 und 760 mm durch einfache Mani-

pulation vorzunehmen. Untersucht wurden der Cholera-, Typhus-, Tuberkel-, Kapselbacillus Pfeiffer, Rotzbacillus, Staphylococcus aureus, Milzbrandbacillus, Actinomyces, ferner von anaerobiotischen Formen der Rauschbrand-, Tetanusbacillus und der des malignen Oedems. Aus den tabellarisch und graphisch beigegebenen vorläufigen Resultaten der in Fortsetzung begriffenen Arbeit schliesst Verf. folgendes:

Nach der Aussaat nehmen die Bakterienkulturen Sauerstoff auf und geben CO_2 aus und zwar beides um so reichlicher je lebhafter das Wachsthum ist. Der Verlauf des Gasaustausches ist bei gleichen Bedingungen bei demselben Bakterium so gleich, dass man daraus das Bakterium erkennen kann. Bei demselben Bakterium ist die Dauer des intensiven Gasaustausches auch nach Art und Reaktion des Nährbodens sehr verschieden. In der Zeit des lebhaftesten Bakterienwachsthums wird nicht die der aufgenommenen Sauerstoffmenge entsprechende Menge Kohlensäure wiedergewonnen sondern viel weniger. Der verschwundene Sauerstoff ist zum Aufbau der Bakterien oder zur Bildung von Stoffwechselprodukten verbraucht.

Die Methode gestattet demnach zu entscheiden ob und in welchem Umfange Bakterienwachsthum stattfindet. Sie giebt auch den besten Anhalt zur Beurtheilung der Versuchsbedingungen. Sie giebt uns einen Massstab für den Lebenslauf einer Kultur bis zum Tode oder bis zur abgeschlossenen Sporenbildung. Sie erlaubt zu berechnen, wie viel Sauerstoff aufgenommen, wieviel Kohlensäure ausgegeben und wieviel Sauerstoff zurückgehalten wurde. Sie gestattet Alter und Reinheit der Kulturen zu untersuchen und ähnliche Bakterien zu unterscheiden.

Die obengenannten, in Wasserstoff gezogenen anaerobiotischen Formen produciren fortdauernd geringe Mengen Kohlensäure, spalten also Sauerstoff aus dem Substrat ab.

Hesse (177) prüfte mit Hülfe seiner gasanalytischen Methode das Wachsthum von Cholerabakterien auf mit verschiedenen Mengen Soda versetztem Agar. Die Kohlensäurecurven zeigen, dass die Cholerabakterien bei Zusatz von 0,25-0,5 cc Sodalösung (28,6 Th. $Na_2 CO_3 + 10 H_2 O$ auf 100 Wasser) zu 25 cc Agar nahezu gleich gut wachsen, dass aber jede Vermehrung des Alkalizusatzes die Kohlensäureabgabe merklich herabsetzt. Der gegen Säuren so empfindliche Cholerabacillus ist gegen Alkalien sehr widerstandsfähig, da er wenn auch kümmerlich noch auf Substraten wächst, die Curcuma deutlich bräunen. Auffallend war, dass an Stelle der verschwundenen erheblich weniger CO_2 erschien und zwar um so weniger, je lebhafter das Wachsthum und je grösser die Alkalescenz war. Es führt dies Verf. zu der bemerkenswerthen Beobachtung, dass stark alkalische Substrate selbst Sauerstoff aus der Luft aufnehmen und zwar um so mehr, je alkalischer sie sind. Durch gasanalytische Untersuchung eines sterilen Agarglases wurde dies bewiesen. Glücklicherweise stört dieser Umstand

gasanalytische Untersuchungen von Bakterienkulturen deshalb nicht, weil Agar von der den meisten Bakterien günstigsten Alkalescenz nur zu vernachlässigende Mengen Sauerstoff aufnimmt.

Wieviel Sauerstoff nicht in CO_2 wieder gefunden wird, lehrt folgendes Beispiel. In einem Kulturglas, welches 60 cc Luft mit 12,6 cc Sauerstoff enthielt wurden in 25 Tagen 38,4 cc Sauerstoff zum Aufbau der Bakterien und Bildung sonstiger Stoffwechselprodukte benutzt.

Schliesslich wurde noch der optimale Sodagehalt für Cholerabakterien innerhalb der oben angegebenen Grenzen genauer bestimmt und gefunden, dass 0,1-0,2 cc Alkalilösung zu 25 cc Agar entsprechend 0,01-0,023 krystallisirtem kohlensauren Natron die günstigste Menge ist.

Phipson (192) glaubt, dass aller Sauerstoff der Luft seine Existenz dem Pflanzenleben verdanke. Die Uratmosphäre sei Stickstoff gewesen, durch vulkanische Aktionen sei dann im Laufe der Zeiten Kohlensäure und Wasserstoff hinzugekommen. Die erste Vegetation auf der Erde sei in einer Atmosphäre entstanden, die keinen freien Sauerstoff enthielt, die Pflanzen seien anaerobiotisch gewesen und seien es auch heute noch; Convolvulus arvensis kann nach Verf. zwar nicht in einer reinen, wohl aber in einer stickstoffhaltigen Kohlensäureatmosphäre unter gleichzeitiger Anwesenheit von Wasserdampf existiren. Demnach müsse das pflanzliche Leben vor dem der Thiere entstanden sein; das Thierleben sei hervorgegangen aus einer allmählichen Umwandlung der anaërobiotischen Zellen in aërobiotische, indem der Sauerstoff durch das Pflanzenleben in die Atmosphäre gekommen sei und von Jahr zu Jahr zunähme, natürlich in so kleinen Mengen, dass die Zunahme in einem Menschenalter nicht nachzuweisen sei. (Chemikerztg. Rep.)

Hierzu bemerkt Dr. G. Meyer in einer Zuschrift an die Redaktion der Chemikerzeitung, dass er die hier entwickelte Ansicht schon 1891 in der Gaea ausgesprochen habe.

Cohn (149) beschäftigt sich seit längerer Zeit mit Untersuchungen über Selbsterhitzung von Heu und ähnlichen Körpern und findet, dass es sich hier in allen untersuchten Fällen um von thermogenen Mikrophyten erregte Fermentationen handelt. Näher berichtet er hier über Versuche mit Baumwolle, bei denen er einige Pfund Baumwolle in einem durchlöcherten, aussen mit Watte umgebenen Blechkasten hielt. Er konnte weder an trockner noch an feuchter Baumwolle hier je Temperatursteigerung bemerken; in Einklang hiermit findet Haepke in einer kritischen Untersuchung der angeblich durch Selbsterhitzung entstandenen Baumwollenbrände, dass letztere immer durch Auffliegen brennender Körper nie durch Selbstentzündung entstanden, während durchfettete Baumwolle sich selbst entzünden könne; Verf. fand aber auch an mit 50 % Rüboel getränkter Baumwolle keine Temperatursteigerung. Dagegen fand Verf., dass die Nissel genannten, durch den Wolf der Spinnereien aus der Baumwolle entfernten Unreinig-

keiten mit dem $1^1/_2$ fachen Gewicht Wasser befeuchtet sich bis zu 67° unter Trimethylamingeruch erhitzten und humusartige Beschaffenheit annahmen. Als Erreger dieser Erscheinung spricht Verf. Mikrokokken an; er scheint aber diese Annahme nicht durch Reinkulturen geprüft zu haben. Jedenfalls sind Bakterien die Ursache der Erhitzung, denn sterilisirte Baumwollabfälle erhitzen sich nur auf Zusatz von Waschwasser frischer Abfälle. Die Erhitzung geht Hand in Hand mit Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureproduktion und steht bei Sauerstoffabschluss still. Der Prozess ist also bedingt durch die Athmung aerobiotischer Bakterien.

Berthelot (132) macht einige Bemerkungen über die Selbsterhitzung des Heus. Das sofort nach dem Schneiden auf Haufen gesetzte Gras fault ohne Temperatursteigerung. Wird es aber vorher ausgebreitet, so geben die Pflanzen Wasser ab und scheiden Kohlensäure unter Sauerstoffaufnahme aus; so bildet sich das Heu. Wird feuchtes Heu dagegen zusammengepackt so fängt es unter Temperatursteigerung an zu gähren. Die Temperatur steigt aber gelegentlich über 70°, über die Grenze wo die Gährungserreger leben können und es gehen nun rein chemische Oxydationen vor sich. Solches Heu schmeckt und riecht empyreumatisch und kann sich selbst entzünden.

Berthelot und **André** (133) bemerken, dass Humus für die Pflanzenernährung direkte Bedeutung hat entweder sofort oder nach Oxydation, Hydratation etc., nach chemischer Einwirkung von Luft und Wasser, unter Beihilfe der Mikroorganismen. Oder der Humus wirkt, indem er Stickstoff, Schwefel, Phosphor, Alkalien in Form unlöslicher besonderer Verbindungen zurückhält, sie so der Auswaschung durch Drainagewasser entzieht und sie in Berührung mit den Wurzeln der Pflanzen hält. Schliesslich ernährt der Humus auch die stickstofffixirenden kleinen Organismen. Der Humus entsteht aus Pflanzenresten, aus denen durch rein chemische und durch kleine Organismen ausgeübte physiologische Prozesse eine Reihe von Stoffen entfernt, theilweise in lösliche Form übergeführt und dann ausgewaschen werden. Der unlösliche Rest ist Humus.

Die Verf. analysiren nun eine Reihe von Erden vom Versuchsfelde Meudon, die keine deutlichen Pflanzenreste mehr enthalten und keinen Dünger erhalten haben. Solche Böden enthalten kein in Glykose überführbares Kohlehydrat und nur Spuren von Ammoniakstickstoff.

	I	II	III	IV
Organischer Kohlenstoff	19.1	19.8	22.3	43.5
Wasserstoff	1.5	—	—	—
Stickstoff	1.7	1.0	1.65	1.7
Organischer Sauerstoff	11.9	—	—	—
Organ. Substanz in Sa.	34.2	32.9	38.4	72.3

In Böden beträgt der Stickstoff von 2-3 bis 5 oder 6 % der organischen

Substanz, in Pflanzentheilen höchstens 3-4 und die Verf. schreiben dieses Uebergewicht des Bodens der Gegenwart kleiner stickstofffixirender Organismen zu.

Sommaruga (208) zeigt anknüpfend an die Erfahrung, dass die Kultur mancher Bakterien an den Glyceringehalt der Substrate geknüpft ist (Tuberkel) oder dadurch sehr begünstigt wird, dass von 19 Spezies von Mikroorganismen 16 auf Gelatine, Agar oder in Bouillon mit 5 $^0/_0$ Glycerin zum Theil sogar ziemlich viel Säure produciren, während sie auf denselben Nährböden ohne Glycerin alkalische Stoffwechselprodukte bilden.[1] Ueber die Natur der gebildeten Säure spricht sich Verf. noch nicht aus, will dieselbe aber zunächst für Cholerabakterien untersuchen. Selbst stark saure Kulturen waren nur ausnahmsweise abgestorben, sodass die Säure den Bakterien nicht so schädlich ist, wie man gewöhnlich annimmt.

Schardinger (205) findet im Trinkwasser manchmal im Ganzen 7 im Dünndarm Kohlehydrate zersetzende und so pathologisch wirkende Bakterien, die bei vielen Anomalien vorkommen und will Wasser, welches solche Bakterien enthält daher beanstanden. Die betreffenden Formen können durch ihre Zersetzungsprodukte leicht identifizirt werden. (Chem. Centralbl.)

Beyerinck (135) berichtet über den Zustand seiner Algenreinkulturen, deren Gewinnung er früher (Botanische Zeitung 1890) beschrieb.

Nur Scenedesmus acutus zeigt die durch die Wärme verursachte Erscheinung der Abschwächung, die auch die Kultur mancher Bakterien erschwert oder unmöglich macht[2]. Diese Form wird daher bald ganz eingehen.

Chlorella vulgaris isolirte Verf. seitdem noch mehrmals von Neuem. Sie kommt z. B. in nitrifizirenden Ammoniaksalzlösungen, die mit Gartenboden infizirt wurden oft vor; solche Lösungen werden auch oft bräunlich durch Diatomeen oder eine sarcineartige Phycophycee. Zur Isolirung der Chlorella stellt Verf. ein verdünntes Papilionaceendekokt mit 8 $^0/_0$ Gelatine her, übergiesst die Platte mit der grünen Flüssigkeit und findet dann nach einem Monat Chlorellakolonien als schwarzgrüne Punkte, die auf Malzextraktgelatine kräftig weiter wachsen. Kulturen dieser Form aus 1890 sind noch lebendig. Die Chlorella kann, wenn auch schwieriger als aus Peptonen oder den Amiden des Malzes Stickstoff aus Ammonsalzen, Nitriten und Nitraten, nicht aber freien N assimiliren.

Die Kulturen von Chorosphaera limicola sind kräftig geblieben. Auch jetzt noch wird die Schwärmerbildung durch Konzentrationserhöhung aufgehoben und umgekehrt begünstigt. In Malzextrakt wächst die Form üppig.

Die Gonidien von Physcia parietina, die Verf. nach Schwendener und Bornet früher Cystococcus humicola Naeg. nannte, bezeichnet Wille als Chlorococcum humicola Rabenh., De Bary als Protococcus viridis. Alte

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 58.
[2]) Ebenda II, 1891, p. 81.

Ulmenstämme zeigen bei Delft an der Südwestseite bei Regen eine schwarzgrüne, bis 3 Fuss über den Boden reichende Schicht, die weiter oben saftgelbgrün erscheint. Diese gelbgrünen Stellen sind hauptsächlich mit Pleurococcus viridis bewachsen, während an den schwarzgrünen ausserdem Hormidium parietinum und Chlorococcum humicola vorkommt; letztere Art scheint dort wo reichlich lösliche organische Nährstoffe vorhanden sind, gemein zu sein. Die in Rede stehende Form scheint sich an das Wachsthum auf konzentrirterem organischen Substrat seit 1890 angepasst zu haben, denn die Kulturen wachsen jetzt rascher und bilden jetzt auch auf konzentrirterem Nährmaterial Schwärmer. Neuerdings konnte Verf. diese Form auch in anorganischen Lösungen aus Ammonnitrat, Kaliumbiphosphat und Leitungswasser kultiviren; die Zellen wachsen sehr langsam, bleiben kleiner und bilden keine Schwärmsporen sondern pflanzen sich nur nach dem Schema der Sporangientheilung fort. Verf. glaubt aber wegen des langsamen Wachsthums der Alge bei anorganischer Nahrung, dass in der Flechte die Gonidien durch organische vom Pilz gelieferte Stoffe ernährt werden, also ein doppelter Parasitismus besteht. Neuerdings isolirte Verf. noch Stichococcus major Naeg. und eine von Chlorella vulgaris verschiedene Art. Beide wurden aus schwarzgrünem Ulmenrindeüberzug isolirt, indem die Rasen von Hormidium parietale sich nach längerem Liegen und Impfen auf Ulmenrindegelatine als bakterienfrei erwiesen. Pleurococcus vulgaris und Hormidium scheinen sich auf Gelatine nicht zu entwickeln. Stichococcus major ist so zu sagen ein dickes Stäbchenbakterium mit seitlichem Chlorophor. Diese Form wächst auf Gelatine üppiger und schneller als alle vom Verf. sonst untersuchten Arten. Alle sechs vom Verf. kultivirten Arten zeigen ihr Wachsthum durch organische Stoffe begünstigt, obschon sie sich sehr langsam auf Kosten anorganischer Substanzen ernähren und vermehren können.

Kuprianow (182) zeigt, dass in Pepton und Calciumcarbonat enthaltenden Glykoselösungen Vibrio aquatilis, Vibrio berolinensis und Bon-

Vibrio	Zersetzter Zucker g	Gebildete Milchsäure g
Koch	57.9	5.15
Finkler-Prior	26.4	2.0
Metschnikoff	28.2	1.1
Deneke	20.1	0.71
aquatilis	30.6	1.75
berolinensis	54.0	5.15
Bonhoff b	64.5	6.70
„ a	24.6	1.39
Weibel	30.15	2.78

HOFF b inaktive, Vibrio DENEKE und BONHOFF a Rechts-, Vibrio KOCH, FINKLER-PRIOR, METSCHNIKOFF und WEIBEL Links-Milchsäure bilden. Die Kulturen gingen in 4 Liter-Kolben 3 Wochen lang.

Jakowski (179) macht zunächst einige Angaben über Verhalten des B. pyocyaneus in Kultur, über den Mangel der Sporenbildung und den Wechsel der Farbstoffproduktion und wendet sich dann zu seiner Untersuchung der letzten Produkte der Eiweisszersetzung durch den B. pyocyaneus. Er liess entfettetes Fleisch in Kohlensäureatmosphäre von dem B. zersetzen und fand, als er nach einigen Tagen das entstehende Gas auffing 18,45 $^0/_0$ H und 81,55 $^0/_0$ CO_2. Weiter konnten Methylmerkaptan, Spuren aromatischer Oxyverbindungen, Skatol, Spuren eines unbestimmbaren Alkohols und Buttersäure und im Rückstand Pepton und wahrscheinlich Skatolessigsäure nachgewiesen werden.

Bei Kultur des B. pyocyaneus auf Fleisch unter Luftzutritt bildeten sich reichlich freie Gase. Das weitere Analysenresultat war fast das gleiche wie vorhin. H_2S, Methylmerkaptan, aromatische Oxyverbindungen, Skatol, Buttersäure, im Aetherauszug des Rückstandes ausserdem Pepton wurden gefunden.

Verf. fand die von ihm untersuchten Formen des B. pyocyaneus im Darmkanal und es kann sein, dass der Bacillus die Zersetzung der dort vorhandenen Eiweisssubstanzen beeinflusst. Die Formen sind von den beiden sonst beschriebenen Formen α und β durch das Verhalten auf Kartoffel und Milch etwas verschieden. Verf. will sie aber doch nicht als neue Species auffassen, weil bekanntermassen sehr leicht Modifikationen des B. pyocyaneus mit leicht wieder wegzuschaffenden neuen Eigenschaften gewonnen werden können.

Gorini (167) findet hinsichtlich der Cholerarothreaktion, dass die Cholerabacillen kein Indol aus Pepton bilden, wenn sie vergährbare Kohlehydrate zur Verfügung haben.

Ernst (158) beschreibt einen plumpen, unbewegliche Stäbchen bildenden anaërobiotischen Bacillus aus Schaumleber, der keine Sporen bildet und Gas producirt.

Duclaux (157) hat früher gezeigt, dass Glykose und Milchzucker in alkalischer Lösung im Sonnenlicht langsam zu Alkohol und Kohlensäure verbrennen, wobei auch etwas Ameisensäure entsteht. Die Analogie dieses Vorganges mit dem der alkoholischen Gährung ist auffallend zumal jene Verbrennung des Zuckers auch in geschlossenen Gefässen und im luftleeren Raum wenn auch langsamer vor sich geht.

Als Verf. aber neuerdings statt Kali oder Ammoniak zum Alkalisiren der Zuckerlösung Baryt oder Kalk anwandte, erhielt er keinen Alkohol sondern Milchsäure während letztere für sich bei Gegenwart von Kali Alkohol giebt. Man könnte sich das angeführte Resultat also so erklären, dass Zucker

bei Gegenwart aller Alkalien immer Milchsäure giebt, dass bei Gegenwart von Baryt das gebildete Laktat keinen Alkohol giebt, wohl aber bei Gegenwart von Kali.

An Milchsäure entstehen bis zu 50 % des Zuckergewichtes, während unter den angegebenen Bedingungen nur 3-4 % Alkohol beobachtet werden. Neben Milchsäure entsteht hierbei Kohlensäure und Essigsäure ebenso wie bei der Milchsäuregährung, die nach demnächst zu publizirenden Untersuchungen von Kayser ebenfalls immer Essigsäure liefern soll.

Wie bei den Milchsäuregährungen entstehen auch bei der Verbrennung des Zuckers im Sonnenlichte verschieden drehende Milchsäuren und zwar scheint der Sinn der Drehung von der des Zuckers abzuhängen. Maltose gab Rechtsmilchsäure mit linksdrehendem Zinksalz, aus Lävulose entstand Linksmilchsäure mit rechtsdrehendem Zinksalz, Invertzucker lieferte inaktive, wohl aus Rechts- und Linksmilchsäure entstandene Säure. Die Atomstellung im Zuckermolekül, die die Drehung bestimmt, bleibt also nach der Verbrennung erhalten, während die tiefereingreifenden Bakterien dieselbe ändern können. Die Oxydation im Sonnenlicht kann aber auch tiefer eingreifen, denn aus Maltose entsteht dadurch bei Gegenwart von Baryt neben rechtsdrehender auch etwas inaktive Milchsäure.

Eine weitere Analogie zwischen den Oxydationen im Sonnenlichte und den Gährungen findet Verf. darin, dass Rohrzucker erst dann oxydirt wird, wenn er in saurer Lösung dem Sonnenlichte ausgesetzt und so invertirt wurde.

Zu Beginn der Oxydation entstehen braune Körper, die den Humussubstanzen des Bodens analog sind, später werden sie zu ungefärbten Körpern weiter oxydirt wie der Humus auch. Ebenso entsteht sicher ein Theil des Humus des Bodens durch die Wirkung der Sonne auf Kohlehydrate und nicht durch Bakterien.

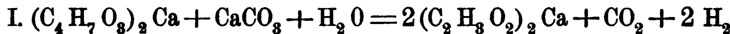
Gosio (168) fand auf einem in 1000 g 0,05-0,10 g weissen Arsenik enthaltenden Kartoffelbrei Schimmelüberzug und es entwickelte sich nach einer Woche ein knoblauchartig riechendes Gas, welches Silber aus Silbernitrat reduzirte. Durch Reinkulturen fand Verf. dass die angeführte Wirkung auf Arsenverbindungen mit der grössten Energie durch Penicillium glaucum, Aspergillus glaucus, Mucor mucedo etc. ausgeübt wird. Durch Kultur konnte Verf. das Arsen in einer 0,00002 g Natriumarsenit enthaltenden Milch nachweisen. Diese Organismen sind also ein vortreffliches Reagens auf Arsen. Arsenige Säure und Arsensäure und deren alkalische Salze können am leichtesten von den genannten Schimmelpilzen in flüchtige Verbindungen umgewandelt werden. Die Erscheinung ist schwächer bei den Kupferverbindungen des Arsens und gelingt nicht mit den Sulfiden desselben. Die betreffenden Substrate müssen Kohlehydrate enthalten, mit reinem Albumin gelingt der Versuch nicht. Die sich entwickelnden Arsendämpfe bestehen

nicht nur aus Arsenwasserstoff sondern auch aus einer noch unbestimmten kohlenstoffhaltigen Verbindung. (Chemikerztg.)

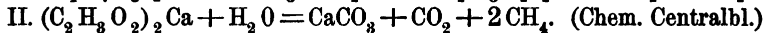
Csapodi (152) bespricht die eben erwähnten Versuche von Gosio, wonach Schimmelpilze und besonders Mucor Mucedo auf feste Arsenverbindungen einwirken. Er bemerkt dazu dass auf diese Weise auch arsenhaltige Tapeten giftig werden können.

Heim (174) beobachtete bei dem in schwefelsauren Chininlösungen vorkommenden, längst als Mycel bekannten Pilz eine Fruktifikation, wonach er zu Aspergillus gehört. Er will ihn einstweilen Aspergillus sp. forma quininae nennen. (Bot. Centralbl.)

Araki (121) versetzte eine Lösung von oxybuttersaurem Kalk mit Calciumcarbonat und einer gefaulten Peptonlösung. Unter den Fäulnissprodukten konnte Methan und Essigsäure sicher nachgewiesen werden. Man kann daher annehmen, dass β-Oxybuttersäure durch Fäulniss in 2 Mol. Essigsäure gespalten wird und dass diese dann selbst der Fäulniss unterliegt, wobei Methan und Kohlensäure auftritt:



I. $(C_4H_7O_3)_2Ca + CaCO_3 + H_2O = 2(C_2H_3O_2)_2Ca + CO_2 + 2H_2$



II. $(C_2H_3O_2)_2Ca + H_2O = CaCO_3 + CO_2 + 2CH_4$. (Chem. Centralbl.)

Purdie und **Walker** (194) zeigen, dass wenn Spuren von Penicillium glaucum in eine Lösung des inaktiven sauren Ammonsalzes der inaktiven Aethoxybernsteinsäure mit Nährsalzen gebracht werden, reichliches Wachsthum erfolgt, wobei die linksdrehende Componente der inaktiven Säure verzehrt wird, während die rechtsdrehende unverändert bleibt. Das spec. Rotationsvermögen der Säure in 5-10 proz. Lösung ist ungefähr 33°. Die Säure schmilzt bei 76-80°, während die inaktive Säure bei 86° schmilzt. Das aktive saure Ammoniumsalz krystallisirt mit 1 Mol., das inaktive Salz mit $^1/_2$ Mol. Wasser. Die inaktive Säure kann auch mittelst des Cinchonidinsalzes in ihre aktiven Componenten zerlegt werden, indessen wurden nach diesem Verfahren die Säuren nicht ganz rein erhalten. (Chemikerztg.)

Galippe (164) hat früher gezeigt, dass in dem Weinstein (der Zähne) und dem Speichelsteine parasitische Mikroorganismen enthalten sind, die die Abscheidung dieser Gebilde bedingen. Er findet jetzt nach fünfjährigen Versuchen, dass in mit Kohlensäure gesättigtem normalem Speichel sich verschieden grosse, aus Phosphaten und Carbonaten von Calcium und Magnesium bestehende Concretionen bildeten, deren organisches Skelett ein Netz von Mikroorganismen darstellte, deren Natur mit der der Concretionen wechselte und die noch lebendig waren.

Fremlin (159) bestätigt unter Anderem, dass B. coli in „Zucker“-Bouillon Gährung erregt, B. typhi nicht. Die verschiedenen Rassen von B. coli von Mensch, Hund, Maus oder Kaninchen zeigten dabei verschiedene Intensität der Gasbildung. Das Gas bestand zu $^2/_3$ aus CO_2, zu $^1/_3$ aus H.

Roux und **Rodet** (198) konstatiren, dass sowohl B. coli wie B. typhi

Galaktose vergähren und konnten Varietäten von B. coli ziehen, die Milchzucker nicht mehr vergähren. (Centralbl. f. Bacteriol.)

Gilbert und **Lion** (166) finden im Darminhalt Erwachsener eine ganze Reihe von Typen, die dem Bacterium coli commune, wie es von Escherich beschrieben wurde, nahe stehen aber nicht alle Eigenschaften desselben haben. Es darf als B. coli commune nur eine Form bezeichnet werden, die wie Escherich es angab, beweglich ist, Gelatine nicht verflüssigt, auf Kartoffeln kräftige maisgelbe oder gelbgrüne Colonien bildet, Milch coagulirt, Milchzucker vergährt und Indol bildet. Die von den Verf. gefundenen Formen weichen durch die Abwesenheit einer oder mehrerer dieser Eigenschaften von diesem typischen B. coli ab; auch zeigen sie die einzelnen Eigenschaften wie z. B. Beweglichkeit verschieden stark. Weitere Untersuchungen müssen lehren, ob diese Formen verschiedene Spezies oder nur Rassen des B. coli sind, ob also ihre Eigenschaften durch Kultur zu ändern sind oder nicht. Eine der von den Verf. gefundenen Formen ist vielleicht mit Escherich's B. lactis aërogenes identisch. In einer spontan coagulirten Milch finden Verf. nebenbei auch drei Formen, die alle Milchzucker vergähren und Milch coaguliren, von denen aber eine sehr beweglich ist; zwei dieser Formen unterscheiden sich auch durch die Intensität der Indolbildung, während diese Eigenschaft der dritten fehlt; die bewegliche Form bildet nur Spuren Indol.

Schwefelwasserstoffbildung.

Petri und **Maassen** (191) fanden in ihrer ersten Arbeit,[1] dass hinsichtlich der Schwefelwasserstoffbildung unter den Bakterien vielleicht nur quantitative aber keine prinzipiellen Unterschiede beständen. Da von anderer Seite doch zwischen Schwefelwasserstoffbildnern und Nichtschwefelwasserstoffbildnern unterschieden und zu letzteren auch solche gestellt wurden, die nach den Verf. reichlich Schwefelwasserstoff erzeugten, machen sie abermals Controllversuche über Milzbrand, tetragenus und Diphtherie, Heu-, Wurzel- und Kartoffelbacillus, die von anderer Seite als Nichtschwefelwasserstoffbildner bezeichnet den Verf. aber früher und auch jetzt Schwefelwasserstoff lieferten. Dabei zeigte sich, dass Zusatz von Pepton, eines Körpers, der leicht und glatt Schwefelwasserstoff liefern kann, die Schwefelwasserstoffbildung in Bouillon auch solchen Bakterien ermöglicht, die in peptonfreier Bouillon keinen Schwefelwasserstoff bilden. Uebrigens verhalten sich verschiedene Bouillonsorten vielleicht je nach dem Gehalt an peptonartigen Stoffen hinsichtlich der Schwefelwasserstofflieferung verschieden.

Die Schwefelwasserstoffbildung kann auch durch gleichzeitig sich abspielende andere Vorgänge verdeckt werden. So bildet sich, wenn in den Kulturen auch Ammoniak entsteht Schwefelammonium. Die Verf. machen

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 68.

dann noch einige Bemerkungen über Schwefelwasserstoffbildung in der Eikultur, weil sie finden, dass von anderer Seite mit Unrecht angegeben worden ist, dass z. B. Proteus und der Wurzelbacillus im Ei keinen Schwefelwasserstoff bilden. Sie machen daher auf einige nöthige Vorsichtsmassregeln aufmerksam, die z. B. darin bestehen, dass man den Schwefelwasserstoff schon während der Kultur durch Bleiessig nachweist, da sich nach Ablauf der Kultur oft nur noch Spuren finden. Auf Eigelb wird von den untersuchten Formen mehr H_2S wie auf Eiweiss gebildet. Auf flüssigem Blutserum bildet von 16 untersuchten Bakterien nur der Wurzelbacillus und der der Taubendiphtherie Schwefelwasserstoff, auf festem Serum entstand er immer nur, wenn dasselbe stark verflüssigt wurde.

Früher schon fanden die Verf., dass viele Kulturen besonders in Eiern, auf Serum und in Bouillon mit 10 % Pepton stark nach Merkaptan rochen. Zum Nachweis empfehlen sie die Methode von Denigès, wonach über dem Wattepfropf auf den Verschluss des Kulturgefässes ein Röhrchen mit kugelförmigen Erweiterungen, worin sich $^1/_2$ % Isatin in konzentrirter Schwefelsäure befindet, so angebracht ist, dass die austretenden Gase über die Flüssigkeit streichen. Durch Merkaptan wird dann die röthlichgelbe Farbe der Isatinschwefelsäure in eine stark grüne verwandelt. So lässt sich nachweisen, dass bei Einwirkung von nascirendem Wasserstoff aus saurer Quelle aus Witte'schem Pepton sich Merkaptan bildet und die Fähigkeit so aus geeigneten schwefelhaltigen Körpern neben Schwefelwasserstoff auch Merkaptan zu bilden scheint unter den Bakterien weit verbreitet zu sein. Besonders interessant ist die Merkaptanbildung des von Maassen aufgefundenen Bacillus esterificans. Derselbe erzeugt in 10 % Peptonbouillon in den ersten Tagen penetranten Merkaptangeruch, der weiter verschwindet um einem starken Geruch nach Ananasaether Platz zu machen. Dies ist für die Schwefelwasserstoff- resp. Merkaptanbildungstheorie nach den Verf. von besonderer Bedeutung. Wie der H_2S nach den Verf. durch Einwirkung nascirenden Wasserstoffs auf gewisse schwefelhaltige Körper des Nährsubstrates entsteht, so kann sich beim gleichzeitigen Entstehen von Alkohol und Schwefelwasserstoff Merkaptan bilden. Andererseits ist aber die Möglichkeit zuzugeben, dass die Bakterien einen Theil des Schwefels direkt als Schwefelwasserstoff also nicht erst durch Einwirkung nascirenden Wasserstoffs abspalten.

Ihre Ansicht über die Schwefelwasserstoffbildung durch Bakterien fassen die Verf. wie folgt zusammen. Der zur Loslösung des Schwefels aus gewissen Verbindungen durch Bakterien nöthige Wasserstoff kann aus der schwefelhaltigen Verbindung oder einer anderen stammen. Im einen Falle müsste eine Wanderung des Wasserstoffs zum Schwefel stattfinden, eine Art innere Reduktion, bei der die schwefelhaltige Verbindung eine Zersetzung erlitte, deren eines Produkt der H_2S ist. Im anderen Falle würde

der Schwefel durch den von aussen herantretenden Wasserstoff ohne weitgehende Spaltung der Schwefelverbindung herausgenommen. Auch könnten beide Prozesse nebeneinander herlaufen, wobei der Wasserstoff auch allein dem gespalteneh Theil der Schwefelverbindung entstammen könnte, der Wasserstoff könnte aber auch durch Oxydation sowohl aus Körpern, welche durch Sauerstoffübertragung Wasserstoff geben, als auch durch Hydration unter Wassermitwirkung, wobei ein Oxydations- und ein Reduktionsprodukt entstehen müsste, sich bilden.

Freier Wasserstoff wurde nach Verf. bisher nur bei Anaerobiose beobachtet, während man bei Aërobiose nur die Wirkungen des sogenannten nascirenden Wasserstoffs — seine Reaktionen — wahrnahm. Möglich ist jedenfalls, dass gelegentlich auch bei Aerobien freier Wasserstoff gefunden wird. Die verhältnissmässig grosse Menge freien Wasserstoff, die von Anaërobien gebildet wird macht es wahrscheinlich, dass er vorzugsweise durch Spaltung, theilweise vielleicht durch Hydration entstanden ist. Die Thatsache, dass aus Aerobienkulturen bisher H nicht aufgefangen sei, spreche nicht gegen die Behauptungen der Verf., denn sie wollen durchaus nicht die Schwefelwasserstoffproduktion als einen nur bei Sauerstoffabschluss eintretenden Reduktionsvorgang hinstellen und sie hätten im Gegentheil ausdrücklich betont, dass Oxydationen die Wasserstoffbildung, also auch die Schwefelwasserstoffbildung begünstigen können. Die Reaktionen des nascirenden Wasserstoffs sind nicht nur bei chemischen Prozessen ohne Bethätigung von Organismen deutlich, trotz Gegenwart von Luftsauerstoff, sobald das entstehende Reduktionsprodukt demSauerstoff gegenüber beständig ist, sondern sie machen sich auch in durchlüfteten Bakterienkulturen geltend. Denn solche bilden, wenn sie feinen Schwefel suspendirt enthalten Schwefelwasserstoff, den sie ohne Schwefel nicht produciren; fein vertheilter Schwefel kann aber nur mit nascirendem Schwefel Schwefelwasserstoff bilden.

In peptonfreier Schwefelbouillon oder Natriumhyposulfitbouillon geben alle darin überhaupt wachsenden Bakterien Schwefelwasserstoff, bilden also nach Verf. alle nascirenden Wasserstoff. Da nun aber die Schwefelverbindungen, aus denen die Bakterien Schwefelwasserstoff bilden, mit nascirendem Wasserstoff aus neutraler, saurer oder alkalischer Quelle ihren Schwefel ganz oder theilweise abgeben, ist es nach Verf. unzweifelhaft, dass der Bakterienschwefelwasserstoff ganz oder theilweise durch solche Reduktion entsteht. Die Verf. prüften viele Schwefelverbindungen auf ihre Spaltbarkeit und Reduktionsfähigkeit durch Bakterien und fanden, dass nur solche Verbindungen, die ihren Schwefel ganz oder theilweise an nascirenden Wasserstoff abgaben auch mit Bakterien H_2S lieferten, während die Verbindungen, welche Schwefel nur durch Spaltung verlieren, auch in Bakterienkulturen keinen H_2S gaben. Wie kann von dieser Anschauung aus erklärt werden, dass wenn zwei Bakterien auf zwei Nährböden reichlich H_2S bilden, dies

bei Vertauschung der Substrate und Bakterien ausbleibt. Die Verf. fanden, dass keine der untersuchten Bakterien auf allen Nährböden keinen H_2S liefert. Ferner lieferten alle Nährböden mit Pepton oder Eiweiss bei vielen Bakterien gleichmässig H_2S. Schliesslich bilden alle Bakterien auf Bouillon mit 5-10 $^0/_0$ Pepton H_2S. Zur Erklärung dieser Erscheinungen ist zu bedenken, dass verschiedene Bakterien auf demselben Nährboden qualitativ und quantitativ verschiedene Produkte erzeugen. Aus den Versuchen der Verf. geht hervor, dass in Bakterienkulturen gewisse Reaktionen, welche als Wirkungen nascirenden Wasserstoffs bekannt sind, allgemein verbreitet sind. Die Wirkung des Wasserstoffs wird sich bei Anwendung geeigneter schwefelhaltiger Körper immer dann durch das Auftreten von Schwefelwasserstoff kennzeichnen, wenn während des Bakterienlebens keine anderen Körper gebildet werden, die mit dem Wasserstoff energischer und leichter reagiren als dies die betreffende Schwefelverbindung thut. Sonst wird der Wasserstoff von diesen in Beschlag genommen. Ausserdem können auch Körper entstehen, die mit dem Schwefelwasserstoff reagiren und seinen Nachweis deshalb verhindern. Beide Arten von Körpern können in den Substraten entweder vorhanden sein oder entstehen oder zugesetzt werden. Hierher gehören Zucker, Salpeter, indigschwefelsaures Natron. Dass Zucker die Schwefelwasserstoffbildung hemmt ist bekannt. Invertzucker z. B. wird von manchen Bakterien in Mannit übergeführt. Der so verbrauchte Wasserstoff geht für die H_2S-bildung verloren.

Alle Prozesse, bei denen nascirender Wasserstoff auftritt, werden von Salpeter energisch beeinflusst. Verf. stellen daher eine Versuchsreihe mit einer Reihe von Bakterien in Bouillon mit Schwefel oder mit Pepton immer mit Salpeter an und finden, dass die Schwefelwasserstoffbildung aller Bakterien durch Salpeterzusatz herabgedrückt, manchmal ganz verhindert wird. Der Salpeter wird dabei zu Nitrit oder Ammoniak reducirt. Im Allgemeinen zeigen diese Versuche, dass zwischen der Bildung von Schwefelwasserstoff und von Ammoniak gewisse Analogien bestehen. Beide Körper treten in Bakterienkulturen auffallend verbreitet auf. Vielleicht decken manche Bakterien ihren Stickstoff- und Schwefelbedarf aus dem vorher von ihnen gebildeten Ammoniak und Schwefelwasserstoff. Bei allen stickstoff- und schwefelhaltigen Bakteriennährstoffen ist der Stickstoff und Schwefel theilweise leicht reaktionsfähig ohne dass die Verbindungen völlig zu zerfallen brauchen.

Manche Bakterien zersetzen Pepton und Eiweiss bei der Schwefelwasserstoffbildung energisch und vollständig, andere thun dies nicht aber am Schlusse der Kultur derselben liefern Peptone und Eiweisskörper mit nascirendem Wasserstoff jetzt viel weniger Schwefelwasserstoff als früher.

Dieselbe Bakterienart kann auf demselben Substrat in verschiedenen Kulturen auch verschiedene individuelle Eigenschaften zeigen. Auch ändern sich manche Eigenschaften der Bakterien z. B. die der Bildung des

peptonisirenden Enzyms; dies kann aber nach dem Gesagten ein Sinken der H_2S bildung bedingen.

Verf. finden, dass ihre Ausführungen genügen, um alle beobachteten Verschiedenheiten der Schwefelwasserstoffbildung durch Bakterien unter Beibehaltung ihrer Annahme zu erklären, dass der Schwefelwasserstoff seine Entstehung ganz oder theilweise dem nascirenden Wasserstoff verdankt.

Dass gewisse Bakterien in peptonfreier Bouillon keinen Schwefelwasserstoff erzeugten, dies aber nach Schwefelzusatz reichlich thaten, spricht nicht gegen ihre Theorie, wie von anderer Seite behauptet wurde. In peptonfreier Bouillon fehlt eben bei schwachen wie kräftigen H_2S-bildnern die Schwefelwasserstoffbildung gelegentlich.

Rubner (199) weist darauf hin, dass man die Bildung des sehr weitverbreitet bei allen möglichen Fäulnissprozessen auftretenden Schwefelwasserstoffs sich gewöhnlich so vorstelle, dass nascirender Wasserstoff bei Abwesenheit von Sauerstoff auf Sulfate oder aber organische, schwefelhaltige Stoffe, Eiweiss u. s. w. einwirke. Es sei aber auch die Möglichkeit zu erwägen, ob nicht Schwefelwasserstoff primär und direkt durch das Bakterienprotoplasma abgeschieden werden könne. Zur Prüfung der ersteren, herrschenden Theorie will Verf. untersuchen, ob überall wo Schwefelwasserstoff entsteht Wasserstoffbildung nachzuweisen sei und ob dieselbe bei Bakterienformen, die keinen Schwefelwasserstoff produciren, fehle. Ob zweitens die Abwesenheit von Sauerstoff für die Schwefelwasserstoffentstehung nothwendig ist und ob Sulfate das Material für den H_2S liefern müssen und können.

Der erste Punkt dieser Fragestellung ist nicht direkt zu erledigen, weil sich so kleine Wasserstoffmengen nicht nachweisen lassen. Man wird vielmehr Reduktionswirkungen durch Bakterien, wie die des Schwefels und Salpeters sind, nachgehen müssen, die ein sicheres Zeichen von nascirendem Wasserstoff sind.

Wenn man Bakterien in Bouillon heranwachsen lässt und dann Schwefel zufügt, so bildeten alle untersuchten Formen reichlich Schwefelwasserstoff, was auf eine Entwicklung von nascirendem Wasserstoff und Einwirkung desselben auf den Schwefel schliessen lässt. Auf dieselbe Weise ist aber die Schwefelwasserstoffbildung aus Bouillon durch Bakterien ohne Zusatz von Schwefel nicht zu erklären wie z. B. auch Petri und Maassen[1] wollen, denn bei Zusatz von Schwefel bilden auch die Bakterienformen reichlich H_2S, welche ohne Schwefel nicht dazu im Stande sind. Vergleichsweise untersucht Verf. auch die Reduktion von Nitraten in Nitrite, die als Wirkung von nascirendem Wasserstoff aufgefasst werden kann und von der bekannt ist, dass sie von Bakterien ausgeführt

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 68 und vorstehend. Ref.

werden kann[1]. Verf. findet in gewöhnlicher Bouillon mit 1 % Salpeter[2] folgende Resultate:

Bakterienform	Reaktion mit Metadiamidobenzol	SH_2 Produktion
Wurzelbacillus[3]	0	0
Proteus	stark braun	0
Schweineseuche	schwach braun	0
fulvus	stark "	0
Typhus	" "	0
tetragenus	" "	0
FRIEDLAENDER	" "	0
Staph. pyogenes aureus	" "	0
EMMERICH	tief "	0
Milzbrand	" "	0
Schwarze Hefe	0	0
Cholera asiatica	deutliche Reaktion	0
pyocyaneus	schwache "	0
Orange Sarcine	0	SH_2
Rother Kiel	sehr starke Reaktion	"
Rother Plymouth	" " "	"
B. megaterium	" " "	"

1) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 226 unter GILTAY und ABERSON, eine Arbeit, die Verf. freilich nicht erwähnt.

2) Mehrere Formen besonders die ersten vier der Tabelle wuchsen bei Salpeterzusatz recht dürftig. Bei der Feinheit der Nitritreaktion hätte wohl auch ein geringerer Zusatz genügt.

3) Diese Tabelle zeigt deutlich, wohin die meist geübte planlose Bezeichnungsweise der Bakterien und Hefen schon geführt hat. Dem Verf. soll damit natürlich kein Vorwurf gemacht werden.

Nitritbildung wurde also fast ausnahmslos beobachtet, sei es nun, dass die betreffenden Organismen H_2S producirten oder nicht. Auffallend ist nur, dass schwarze Hefe und orange Sarcine trotz kräftiger Entwickelung, wobei letztere Form auch H_2S producirte, kein Nitrit bildeten.

Die Beobachtungen über Nitritbildung zeigen, dass dort Reduktionsvorgänge offenbar nicht solche Umsetzungen auszuführen in der Lage sind, wie Schwefelwasserstoffbildung eine ist. Schwefelwasserstoffbildung bei Gegenwart von Schwefel und Nitritbildung lassen auf erhebliche H-Production schliessen, aber der Umstand, dass solche kräftige Reduktionswirkungen bei Formen, die H_2S bilden und solchen, die es nicht thun, vorkommen zeigt, dass der H_2S nicht diesen Vorgängen seine Entstehung verdankt. Als Beweis hierfür kann auch angeführt werden, dass Verf. H_2S auch beim Durchleiten von Luft durch eine Proteus-Bouillonkultur auftreten sah, wenn auch weniger als ohne Lüftung. Aehnliches beobachtete schon Holschwenikoff. Auch produciren ausgesprochen aerobiotische Formen, wie Kaninchensepticämie, B. fulvus und Megaterium H_2S. Alles dies zeigt, das H_2S bei Gegenwart von O gebildet wird, nascirender Wasserstoff kann aber in Berührung mit O nicht vorhanden sein, also auch nicht die Ursache der H_2S entstehung sein.

Trotzdem also Reduktionen durch Bakterien, welche auf nascirenden Wasserstoff zurückzuführen sind, weit verbreitet sind, entsteht doch oft kein H_2S, obwohl Sulfate in den Nährsubstraten weit verbreitet sind. Auch Fitz hat auf Grund von Versuchen bei verschiedenen Bakteriengährungen schon angegeben, dass nascirender Wasserstoff Sulfate nicht reducirt. Er hält die H_2S-Bildung für eine Sulfatreduktion durch die spezifische Wirkung gewisser Organismen, welche auch ohne Gährwirkung zu Stande kommen kann. Verf. bestätigt, dass in Nährlösung, welche 1 $^0/_0$ SO_4Na_2 zugesetzt erhalten hatte und nach Infektion mit „dem“ (welchem) Buttersäurebacillus verschlossen gehalten wurde, kein H_2S auftrat. Ebenso verhält sich B. coli. Erwähnung verdient auch, dass B. coli in Milchzuckerkulturen viel, Typhusbakterien kein Gas bilden, wie Chantemesse und Widal[1] angaben; trotzdem bilden die Typhusbakterien sehr viel, B. coli weit weniger H_2S.

Sulfate eignen sich also nicht für die Angriffe des nascirenden Wasserstoffs bei Gährungen. Sind denn Sulfate überhaupt das Material, welches bei der H_2S-Bildung zerfällt?

Die Extraktivstoffe des Fleisches enthalten Sulfate und organische Schwefelverbindungen, von denen ein Theil durch essigsaures Eisen fällbar ist. Als Verf. nun aber aus verschiedenen Organextrakten die Sulfate mit Chlorbaryum ausfällte und in dem Filtrat Bakterien kultivirte, fand er, dass die H_2S bildenden Formen kräftig wuchsen und ebenso schnell und

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 80.

kräftig H_2S producirten wie bei Gegenwart von Sulfaten. H_2S braucht also nicht aus Sulfaten, sondern kann aus organischen Schwefelverbindungen gebildet werden. In manchen Fällen bleiben die Sulfate der Nährsubstrate überhaupt unberührt von den Bakterien, in anderen nehmen sie aber ab, verschwinden auch ganz, in anderen wieder nehmen sie unter dem Einfluss des Bakterienwachsthums sogar zu.

Zur Bestimmung der Sulfate verwendete Verf. hier ein optisches Verfahren, indem er in einem Krüss'schen Polarisationscolorimeter die auf Zusatz von $BaCl_2 + HCl$ in der Kulturbouillon auftretende Fällung mit der in unbesät gelassener Controllbouillon sich bildenden verglich. Die Bakterien wurden vorher durch Eisenchlorid und essigsaures Natron zur Ausscheidung gebracht und abfiltrirt.

Rubner (201) untersucht zum Zwecke des Verständnisses der Funktion der H_2S-bildung letztere als Theil des gesammten Schwefelstoffwechsels und bestimmt quantitativ die Verschiebungen des Schwefels in Folge der Bakterienvegetation. Als Substrat wurde Bouillon benutzt, in der drei Gruppen von Schwefelverbindungen vorkommen. Wenn man essigsaures Natron, dann Eisenchlorid bis zur Rothfärbung zusetzt und kocht, so scheidet sich ein schwefelhaltiger Niederschlag ab, der kein Eiweiss enthält und Schwefelverbindungen nicht mechanisch mitreisst. Die Menge dieses Niederschlages wird nicht alterirt, wenn Bakterien (Proteus, Wurzelbacillus) in der Bouillon gewachsen sind. Ausserdem enthält die Bouillon Sulfate und Schwefel, welcher weder durch die Eisenfällung aufgenommen noch als Sulfat gefunden wird; diesen bezeichnet Verf. als organischen Schwefel.

Zur Bestimmung der Bakterienernte ist nach Verf. die von ihm angegebene Methode die einzig brauchbare. Man setzt dabei wie bei der Eiweissausscheidung essigsaures Natron und dann Eisenchlorid bis zur Rothfärbung zu, worauf beim Erhitzen im Dampfkochtopf alle Bakterien quantitativ ausgeschieden werden; Eiweissstoffe dürfen natürlich daneben nicht vorhanden sein.

Der Verf. ging nun in der Weise vor, dass er in der Bouillon erst die drei oben genannten Arten von Schwefelverbindungen bestimmte, dann Bakterien aussäete und am Schlusse der Kultur durch Erwärmen den H_2S verjagte und wieder analysirte. Der Eisenniederschlag enthält jetzt die Bakterien und zeigt sich daher vermehrt. Die beiden anderen Arten von Schwefelverbindungen können verändert sein. Wo H_2S bildende Bakterien gewachsen sind muss die Gesammtsumme der Schwefelverbindungen kleiner sein, als die in der ursprünglichen Bouillon, wo keine H_2S-bildner wuchsen muss jene Summe unverändert sein. Meist operirte Verf. mit Proteus und Wurzelbacillus. Letzterer diente als Vertreter der Bakterien, welche keinen H_2S bilden. Es wurde gefunden in einer 3 Wochen laufenden Kultur pro Liter Bouillon:

	Vorher	Nachher	Differenz
Sulfatschwefel	0.0061	0.0009	— 0.0052
Organischer Schwefel	0.0528	0.0439	— 0.0089
Durch Eisen fällbar	0.0012	0.0154	+ 0.0142
Sa.	0.0601	0.0602	

Im Ganzen hatten die Bakterien die beträchtliche Menge von 22,8 % aller vorhandenen Schwefelverbindungen aufgenommen und zwar entstammte dieser Schwefel den Sulfaten, besonders aber den organischen Schwefelverbindungen. Nach kürzerer Zeit abgebrochene Versuche zeigen, dass in erster Linie die organischen Schwefelverbindungen, später erst die Sulfate angegriffen werden.

Proteus als Schwefelwasserstoffbildner ergab per 1 Liter Bouillon folgendes:

	Vorher	Nachher	Differenz
Sulfatschwefel	0.0061	0.0015	— 0.0046
Organischer Schwefel	0.0528	0.0281	— 0.0247
Durch Eisen fällbar	0.0012	0.0253	+ 0.0241
Sa.	0.0601	0.0549	- 0.0062

Sowohl der Sulfatschwefel wie die organischen Schwefelverbindungen sind angegriffen worden. Das am Schluss der Kultur konstatirte Defizit an Schwefel ist durch das Entweichen von H_2S bedingt. Diesen H_2S können die Sulfate allein nicht geliefert haben, da mehr S in H_2S entwich, wie die verbrauchten Sulfate überhaupt enthielten.

40,1 % des Gesammtschwefels des Substrates wurde in diesem mehrere Wochen dauernden Versuche in den Bakterien abgelagert. In einem anderen Versuche zeigten die Sulfate eine erhebliche Vermehrung sogar, so dass die organischen Schwefelverbindungen hier nicht nur zur H_2S-bildung, zum Aufbau der Bakterienkörpersubstanz sondern auch zur Sulfatproduktion gedient haben müssen:

	Vorher	Nachher	Differenz
Sulfatschwefel	0.0025	0.0060	+ 0.0035
Organischer Schwefel	0.0417	0.0259	— 0.0158
Durch Eisen fällbar	0.0004	0.0102	+ 0.0098
Sa.	0.0442	0.0421	— 0.0021

Die Sulfate können dabei entweder durch direkte Umwandlung organischer Schwefelverbindungen oder eine solche von H_2S in SO_4H_2 entstanden sein. Die Bakterien des Typhus und der Kaninchenseptikämie zeigten ganz ähnliche Resultate.

Die Sulfidbildner sind also im Schwefelstoffwechsel den Nichtsulfidbildnern sehr ähnlich, sie vermögen Sulfate und organische Schwefelverbindungen zu verwenden, sie bedürfen aber der Sulfate nicht, letztere können bei langer Kultur sogar von den Bakterien erzeugt werden.

Weiter untersuchte Verf. noch den Einfluss der Temperatur und des Luftdurchleitens auf die H_2Sbildung durch Proteus. Bei Bruttemperatur wurde ziemlich ebensoviel H_2S gebildet, wie bei Zimmertemperatur. Dagegen wurde bei Lüftung viel weniger H_2S gefunden, als ohne Lüftung. Die Mengen verhielten sich z. B. wie 2 : 8 und im Gesammtmittel betrug der in H_2S ausgetretene Schwefel bezogen auf den in den Bakterien abgelagerten Schwefel mit Lüftung 8,7, ohne Lüftung 73,1. Hierdurch kann vielleicht die Theorie indirekter Schwefelwasserstoffbildung sehr frappant bestätigt werden, indem der reichlich zugeführte Sauerstoff zur Bindung von Wasserstoff verbraucht würde. Es kann aber auch, und Verf. hält dies für wahrscheinlicher, der H_2S zu H_2O_4S oxydirt werden durch denselben Vorgang, durch den in den Bädern von Aix die Kalksteinwände sich mit Gypskrystallen überziehen. Thatsächlich findet Verf. auch eine erhebliche Vermehrung der Sulfate bei Lüftung der Proteus-Kulturen. Der Bakterienschwefel verhielt sich zur Sulfatvermehrung

ohne Lüftung wie 100 : 21
mit „ „ 100 : 210

Wenn man die Sulfatvermehrung als durch Schwefelwasserstoffoxydation entstanden annimmt zeigt eine Berechnung, dass man mit einer gewissen Berechtigung von einer Vermehrung der Schwefelwasserstoffbildung bei Lüftung reden kann.

Rubner (200) weist weiter darauf hin, dass ausser Schwefelwasserstoff auch Methylmerkaptan als Stoffwechselprodukt von Bakterien nachgewiesen ist und behandelt als Vorarbeit zu einer näheren Untersuchung dieser Frage hier Eigenschaften, chemische Herkunft und Bestimmung des Merkaptans. Es sei dieserhalb auf das Original verwiesen. Die Merkaptangruppe kommt z. B. in Nahrungsmitteln so locker gebunden vor, dass sie, da sie selbst sehr beständig ist, durch viele Einflüsse abgespalten wird. Man wird ihr auch als Rest der natürlichen Auflösung complizirter schwefelhaltiger Moleküle durch biologische Prozesse begegnen.

Eine Möglichkeit der Merkaptanbildung durch niedere Organismen wäre, dass die letzteren Leibessubstanz aus den gebotenen Nährstoffen bilden und Merkaptan durch den Eiweissumsatz im Protoplasma beziehungsweise

durch die Zerstörung abgestorbener Individuen durch andere, einen dem Eiweissumsatze analogen Vorgang, entstände. Jedoch ergaben Penicillium glaucum-Sporen, Hefe in Reinkultur, B. prodigiosus nur sehr geringe Mengen Merkaptan bei der Untersuchung, sodass abgestorbene Mikroorganismen keine ergiebige Quelle der Merkaptanbildung sein dürften. Andererseits scheint bei dem Aufbau der Bakterien eine Verminderung der Merkaptangruppen der Nährstoffe manchmal nothwendig zu sein und so Merkaptan frei zu werden. Die Bakterien werden andererseits leicht abspaltbaren Schwefelwasserstoff und Merkaptan direkt abtrennen; in anderen Fällen wo der Schwefel fester gebunden ist und nur durch höhere Hitzegrade sich SH_2 und Merkaptan abtrennen lassen, können die Bakterien vielleicht durch unvollkommene Verbrennung dasselbe erreichen. SH_2 und Merkaptan dürften von Bakterien meist nicht weiter zerlegt werden, sonst fänden sie sich in den Kulturen nicht vor.

Anknüpfend an die Erfahrung, dass Hefe bei Zusatz von Schwefelblumen Schwefelwasserstoff producirt, fand Verf., dass dabei auch synthetisch Merkaptan wahrscheinlich Aethylmerkaptan entsteht. Doch scheinen die Versuche, da mit abgewogenen Mengen Hefe gearbeitet wurde keine absolute Sicherheit hinsichtlich der Abwesenheit von Bakterien zu geben. Verf. hält es für selbstverständlich, dass ohne Schwefelblumen gährende Hefe weder H_2S noch Merkaptan erzeugt; es scheinen ihm dafür sprechende Erfahrungen der Weinpraxis demnach unbekannt zu sein.

Die Möglichkeit, dass Bakterien Merkaptan nicht blos abspalten sondern auch synthetisch bilden ist nach Verf. zuzugeben; die Vorbedingungen dazu sind vorhanden, da viele Bakterien H_2S und auch kleine Mengen von Alkoholen bilden.

Bei der spontanen Fäulniss thierischer Organe fand Verf. neben H_2S auch Merkaptan; doch kann man aus der Menge des chemisch abspaltbaren Merkaptans noch nicht auf die des durch Fäulniss frei werdenden schliessen. Nach einigen Vorversuchen kann wohl auch aus Merkaptan weiter durch Bakterien H_2S gebildet werden.

Bei der Reifung einiger Käsesorten fand Verf. kein Merkaptan.

Bezüglich des Nachweises von Schwefelwasserstoff und Merkaptan durch Einhängen von Bleipapier in Bakterienkulturen bemerkt Verf., dass Merkaptangas Bleipapier erst hellgelb, dann aber bis braunschwarz, wenn auch nicht so pechschwarz wie Schwefelwasserstoff färbe. Die Schwärzung des Bleipapiers zeigt also nicht an, dass nur H_2S gebildet werde, sondern dass überhaupt flüchtige Schwefelverbindungen, H_2S und Merkaptan entstehen und Verf. glaubt, dass wirklich aus Bakterienkulturen ausser H_2S auch Merkaptan entwickelt würde. Unbeeinflusst von Merkaptan bleiben dagegen die von FROMME[1] benutzten organischen Eisenverbindungen, die

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891 p. 99 unter FROMME.

wenn sie dem Nährsubstrat zugefügt werden, eine Schwarzfärbung der Umgebung schwefelwasserstoffproduzirender Kolonien bedingen.

Stagnitta-Balistreri (209) untersucht auf Veranlassung von Rubner eine grössere Anzahl aërobiotischer Bakterien auf ihre Fähigkeit Schwefelwasserstoff zu bilden. Orientirende Vorversuche über den Schwefelgehalt der Nährsubstrate ergaben

1 Liter enthält	g S	und kann H_2S bilden
Bouillon	0.0705	0.0719
Peptonbouillon	0.2131	0.2174
Agar	0.3016	0.3076
Fleischwasserpeptongelatine	0.7051	0.7192

Zum Nachweis des gebildeten Schwefelwasserstoffs erwies sich Nitroprussidnatrium als zu unempfindlich und ungeeignet für dauernde Verfolgung der Schwefelwasserstoffentwickelung. Die von Fromme[1] angegebene Gelatine mit weinsaurem, essigsaurem Eisen oder Eisensacharat ist sehr empfindlich, Verf. sah aber von festen Nährsubstraten ab und verwendete Bleipapier als Reagens auf H_2S; die Papiere wurden in die Kölbchen eingehängt mittelst in der Watte befindlicher Drahthäkchen.

Ueber die Empfindlichkeit dieser Methode giebt Verf. an, dass in 100 ccm fassenden Erlenmeyer-schen Kölbchen bestimmte, aus abgewogenen Mengen Schwefelkalium bereitete Mengen Schwefelwasserstoff noch folgende Färbung gaben:

6,2	mg	H_2S	tiefschwarz
3,1	„	„	schwarz
1,2	„	„	schwärzlich
0,3	„	„	bräunlich
0,03	„	„	schwach braun
0,01	„	„	war die Grenze

Geruch war noch wahrzunehmen, wenn 3,1 mg H_2S im Kölbchen war. Verf. bezeichnet daher den Färbegrad entsprechend:

3	mg	H_2S	als	sehr stark
0,3	„	„	„	deutlich
0,03	„	„	„	Spuren

Umgekehrt wurden geschwärzte Bleipapiere mit H_2O_4S erwärmt, die Gase durch alkalisches Wasserstoffsuperoxyd getrieben und die gebildete H_2O_4S als schwefels. Baryt gewogen; man fand so

Papier schwärzlich	= 1,4	mg	H_2S
weniger schwarz	= 0,9	„	„
leicht braun	= 0,02	„	„

was gut in obige Tabelle passt.

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 99.

Der Verf. fand Schwefelwasserstoffbildung in Bouillon oder Peptonbouillon bei: Kaninchenseptikämie, Proteus, Typhus, EMMERICH, B. megaterium, B. coli, METSCHNIKOFF, Rother Plymouth, Schweinerothlauf, Rother Kiel, FRIEDLAENDER, Kommabac., Microc. agilis, Pyocyan., Staphyloc. aur., B. acid. lact., B. fulvus, Blaue Milch, während keinen Schwefelwasserstoff bildeten B. subtilis, Rosa Hefe, Rosa Sarc., Schwarze Hefe, Milzbrand, Tetragenus, Spir. rubr., B. lividus, Wurzelbac., Gelbe Sarc., Weisse Sarc., Kartoffelbac., Bac. ruber, Orangesarc., Diphtherie, B. indigogen., B. violac. Bei Formen letztgenannter Reihe wurde gelegentlich auch einmal schwache Papierbräunung konstatirt, so bei Rosa und Weisser Hefe.

Dass eine ganze Reihe obligat aerobiotischer Formen H_2S bilden, stimmt nicht zu der gewöhnlichen Annahme, dass der H_2S durch einen bei Sauerstoffabschluss eintretenden Reduktionsvorgang entstände.

Der Verf. untersucht ferner, ob derselbe Bacillus sich hinsichtlich der Schwefelwasserstoffproduktion auf verschiedenen Nährböden gleich verhält und findet, dass in Muskelbouillon von Rind, Kalb, Pferd und Schellfisch, in Extrakten von Pankreas, Leber, Milz, Lungen, Niere und Thymus und in Blutserum sowie Extrakt frischer Spargel dies der Fall ist.

Der Verf. benutzt zu Versuchen bezüglich Schwefelwasserstoffbildung auch Eier als Nährsubstrat, weil dieselben Schwefel in sehr leicht abspaltbarer Form enthalten. Denn schon bei der Coagulation des Eiweiss wird Schwefel abgespalten und durch Erhitzen bei alkalischer Reaktion wird $^1/_4$ des Gesammtschwefels abgetrennt. Hierbei zeigte sich nun, dass auffallenderweise Proteus in frischen, äusserlich sterilisirten Eiern und ebenso wie Kaninchensepticämie auch in bei 56^0 sterilisirtem Eiweiss keinen Schwefelwasserstoff bildet, während beide Formen dies auf coagulirtem Eiweiss thun.

Andererseits bildet Proteus reichlich Schwefelwasserstoff, in dem eingeengten Dialysat, welches erhalten wird, wenn man Eiweiss gegen destillirtes Wasser dialysirt. Aus Stoffen des Eies kann Proteus also doch H_2S bilden, aber durch andere Umstände wird er im unversehrtem Ei oder ungekochtem Eiweiss daran verhindert. Es kann auf einem bestimmten Nährboden also doch die Fähigkeit der H_2S-Bildung latent werden.

Der Verf. prüfte auch mit negativem Erfolg, ob aus der Körpersubstanz abgestorbener Bakterien Schwefelwasserstoff durch Proteus gebildet wird; auf diese Weise kann also die nachträgliche Schwärzung des Bleipapieres bei manchen lange fortgesetzten Bakterienkulturen nicht erklärt werden.

Karplus (180) beobachtete bei einem in Rekonvalescenz nach Pneumonie befindlichen Patienten Albuminurie, wobei der Anfangs klare Harn nach einigen Stunden trübe wurde und nun sehr unangenehm nach H_2S roch, ohne dass die saure Reaktion des Harnes sich änderte. Die Trübung

bestand vorwiegend aus verschiedenen Bakterien. Die entweichenden Gase schwärzten Bleipapier, neben dem H_2S war wahrscheinlich Merkaptan vorhanden. Aus dem Harn wurde ein Bakterium isolirt, welches Harn in der geschilderten Weise zersetzte. Die Form ähnelt in Gestalt und Verhalten auf Platten und Kartoffeln dem Typhusbacillus. Die Stäbchen zeigen lebhafte Eigenbewegung. In der Tiefe der Gelatine entstehen Gasblasen, auf der Oberfläche ist ein schönes Irisiren bemerklich. Die Gelatine wurde nicht verflüssigt. Die Form gedeiht auch bei völligem Luftabschluss. Ein von ROSENHEIM beschriebenes in Harn H_2S producirendes Bakterium ist dem vorliegenden wohl ähnlich, aber besonders nach dem Verhalten auf Gelatine nicht mit ihm identisch.

In Harn bildet die Form H_2S, nicht in Gelatine und nur manchmal und gering in Bouillon, nicht in Eiern. Aus eiweisshaltigen Substraten bildet die Form also keinen H_2S; in Harn entsteht demnach letzterer wohl aus gewissen schwefelhaltigen Substanzen. Verf. stellte zur Prüfung dieses einen schwefelfreien künstlichen Harn aus 2 Th. Harnstoff, 1 Th. NaCl, 0,2 Th. Kalium biphosphoricum, 0,1 Th. Kalium phosphoricum in 100 Wasser her und fügte dazu nacheinander Sulfate, phenylschwefelsaures Kali, Indikan, Rhodanverbindungen unterschwefligsaure Salze und fand nur auf Zusatz der letztgenannten Schwefelwasserstoff. Vermehrt hatten sich aber die Bakterien in allen Fällen. Da aber unterschwefligsaure Salze im Harn kaum enthalten sind und aus präformirter oder Aether-Schwefelsäure das Bakterium keinen H_2S entwickelte, vermuthete Verf., dass in Harn die organische Substanz die SALKOWSKI Neutralschwefel nennt die Quelle der H_2S-Bildung sei. Als Verf. nun aus Harn die Sulfate (präformirte Schwefelsäure) ausfällte, ging die H_2S Bildung anscheinend mit gleicher Intensität wie vorher vor sich. Dagegen blieb sie nach Ausfällung der Gesammtschwefelsäure aus, entweder weil die Aetherschwefelsäuren mit den anderen Sulfaten die einzige Quelle des H_2S waren oder weil der Neutralschwefel beim Ausfällen so verändert wurde, dass die Reduktion durch das Bakterium nachher nicht mehr möglich war.

Zur sicheren Entscheidung bestimmte Verf. die verschiedenen schwefelhaltigen Substanzen in Harn vor und nach der H_2S Entwicklung. Es zeigte sich, dass mehr als die Hälfte des Neutralschwefels zersetzt war, während die Differenzen im oxydirten Schwefel kaum die Fehlergrenzen überstiegen. Demnach bildet das Bakterium im Harn H_2S aus dem Neutralschwefel, nicht aber aus Sulfaten und Aetherschwefelsäuren.

In den Angaben der Autoren über die Materialien zur H_2S-Bildung im Harn findet Verf. Differenzen; manche fanden Reduktion von Sulfaten, andere nicht. Es ist hier an die Andeutung von SALKOWSKI zu erinnern, der hervorhebt, dass Fäulniss des Harns und H_2S-Gährung nicht ohne Weiteres zu konfundiren seien. In der That sieht man, dass es sich in allen

Fällen in der Litteratur, wo Sulfatreduktion sicher nachgewiesen ist, um Fäulnissbakterien gehandelt hat, während durch die Wirkung anderer Bakterien, so der vom Verf. beschriebenen, eine Sulfatreduktion nicht stattfand. Diese Bakterien waren auch nicht im Stande Eiweissfäulniss einzuleiten, sie können nicht als Fäulnissbakterien schlechtweg bezeichnet werden. Die H_2S-Entwickelung war Folge einer spezifischen Wirkung der Bakterien auf den Neutralschwefel des Harns.

Um zu prüfen ob wirklich neben H_2S von dem beschriebenen Bakterium Methylmerkaptan aus Harn gebildet wurde, worauf der Geruch hindeutete, verfuhr Verf. nach Nencki. Die Destillationsprodukte des mit Oxalsäure angesäuerten Harnes wurden in Cyanquecksilber geleitet und der entstehende Anfangs gelbe später schwarze Niederschlag mit Salzsäure erhitzt, die Dämpfe erzeugten dann in Bleizuckerlösung einen gelben krystallinischen Niederschlag der neben dem eigenthümlichen Geruch für Methylmerkaptan charakteristisch ist. Das beschriebene Bakterium bildet also wirklich aus Harn auch eine geringe Menge Methylmerkaptan.

Farbstoffbildende Bakterien.

Charrin (143) fand, dass der B. pyocyaneus an manchen Stellen der Kartoffelkulturen grünblauen Farbstoff, an anderen den für dieses Substrat gewöhnlichen braunen bildet. Er ist geneigt dies durch eine Variation in der Lebenskraft des Bacillus zu erklären.

Charrin und **Dissard** (146) untersuchen die Abhängigkeit der physiologischen Eigenschaften des Bacillus pyocyaneus von der Natur der ihm gebotenen Nährstoffe. Alle Kulturen wurden in 50 cc folgender Lösung als Basis gemacht

PO_4KH_2	0,1 g
$PO_4Na_2H + 12 H_2O$	0,1 „
$CaCl_2$	0,05
$MgSO_4 + 7 H_2O$	0,05
CO_3KH	0,134
H_2O	1000

und zu diesen 50 cc die in der folgenden Tabelle verzeichneten Mengen verschiedener Substanzen zugesetzt. (Siehe folgende Seite.)

In den Kulturen, welche stickstoffhaltige Substanzen enthalten, wird die vorher neutrale Reaktion alkalisch und es wird etwas Ammoniak gebildet; die Reaktion der Kohlehydrat enthaltenden Kulturen wird dagegen sauer. Glykogen verwandelt der Bacillus zuerst in Glykose.

Harnstoff wirkt antiseptisch auf den Bacillus, der nur bei Gegenwart der schwächsten der in der Tabelle angegebenen Dosen wächst.

Nährstoff		Eigenschaften der Kultur	Reaktion
Pepton	1 g	Stark gewachsen	Alkalisch
	0,5 „	Geringe Farbstoffproduktion	—
Asparagin	1 „	Stark gewachsen, viel Farbstoff	—
Harnstoff	1 „	wächst nicht	—
	0,5 „		—
	0,25 „	schwach gewachsen. Kein Farbstoff	—
Glykose	1 „	Gut gewachsen, wenig Farbstoff	Sauer
Glykogen	0,5 „		—
Milchsäure		Schwach gewachsen	—
Essigsäure		—	Sauer

Die Farbstoffproduktion wird wie aus der Tabelle hervorgeht ausser durch sonst bekannte Umstände auch durch die Ernährungsbedingungen verändert.

Bei Gegenwart von Glykose oder Glykogen zeigen die Kulturen nur bis zum zweiten Tage eine leichte Grünfärbung, bei Zusatz von Harnstoff wird kein Farbstoff gebildet, aber der Bacillus hat die Fähigkeit solchen zu produciren nicht verloren, wie Ueberimpfungen auf Agar beweisen.

Dämpfe von Aether und Chloroform verhindern die Entwicklung des Bacillus auf Agar und Kartoffeln, in Lösung muss man von diesen Körpern bis zu 5 $^0/_{00}$ anwenden, um Wachsthum zu verhindern und auch dann wird dies oft nur verzögert. Auf die Folgerungen, die Verf. hinsichtlich der pathogenen Wirkungen des Bacillus aus allen diesen Daten ziehen, kann hier nicht eingegangen werden.

Galeotti (163) untersucht an B. prodigiosus, violaceus, M. aurantiacus, B. pyocyaneus, B. ruber aus Wasser, Sarcina rosea, B. fluorescens und B. lactis erythrogenes die Abhängigkeit der Farbstoffbildung von äusseren Umständen. Er unterscheidet solche Pigmentbakterien, welche lösliche und solche, welche feste Farbstoffe bilden. Erstere, wie B. pyocyaneus und fluorescens färben daher den Nährboden, bei den anderen findet sich das Pigment in und zwischen den Bakterienzellen. Für die Farbstoffbildung der letzteren ist ein flüssiges Nährsubstrat ungünstig, was nicht auf Sauerstoffmangel beruht. Durch Zusatz von Weinsäure wird dieser Einfluss bald erhöht bald vermindert. Armuth des Substrates an Eiweisskörpern stört die Pigmentbildung nicht. Für jede Form giebt es ein Temperaturoptimum der Farbstoffproduction, bei höherer Temperatur wird die Lebensenergie geschädigt und die Pigmentbildung geht verloren. Manche Formen (B. prodigiosus, M. aurantiacus) gewöhnen sich aber an die höhere Temperatur und gewinnen die Fähigkeit der Farbstoffbildung wieder. Zusatz von

Karbolsäure verhindert Pigmentbildung Anfangs, aber auch hier findet nach einigen Generationen Anpassung statt.

Gegenüber dem Einfluss des diffusen Tageslichtes auf die Farbstoffproduktion ist B. lactis erythrogenes am empfindlichsten, dann folgt B. pyocyaneus, resistenter sind B. prodigiosus, violaceus, Sarcina rosea, fast indifferent sind B. fluorescens, ruber, M. aurantiacus; direktes Sonnenlicht ist sehr schädlich. Weniger wie weisses schädigt violettes Licht, dann rothes und gelbes und unbedeutend die Wärmestrahlen. Abwesenheit oder Ueberfluss von Sauerstoff hindert bei fakultativ oder obligat aërobiotischen Formen die Farbstoffproduktion. (Centr. f. Bakteriologie.)

Charrin (144) gelang es bei einer Crassulacee, Pachophyton bracteosum Infectionsversuche mit dem für Thiere pathogenen Bacillus pyocyaneus durch Injektionen in die Blätter zu machen. Wenn man nicht zu wenig injicirt, bleiben die Bakterien eine Reihe von Tagen am Leben und nach 2-4 Wochen vertrocknen die Blätter. Dieselben Resultate giebt die Injektion der löslichen, mit Alkohol fällbaren Stoffwechselprodukte. Die Bakterien sind in den injicirten Blättern bei weitem der Hauptmasse nach in den Intercellularen enthalten. Der Säuregehalt der Blätter verringert sich proportional mit der Bakterienentwickelung. Eine vorherige Injektion der löslichen Stoffwechselprodukte hindert die Entwickelung des B. pyocyaneus in den Blättern nicht. Eine Schutzimpfung ist hier also nicht möglich.

de Freudenreich (160) findet eine neue Form B. pyocyaneus γ, die auf Kartoffeln zuerst braune Colonien zeigt, während nach 7 Tagen die ganze Colonie grün ist und die Kartoffel in der Umgebung sich ebenso färbt. Die Formen α und β bilden stets braune Colonien.

Voges (216) nennt als bisher beschriebene, aus Wasser isolirte Bakterien, welche blauen oder violetten Farbstoff produciren, folgende: Bacillus membranaceus amethystinus JOLLES, coeruleus SMITH, berolinensis indicus CLAESSEN, violaceus LAURENTIUS, violaceus, lividus, janthinus ZOPF, violaceus MACÉ. Verf. beschreibt weiter einige von ihm in Leitungs-, Brunnen-, oder Grundwasser von Kiel resp. Flensburg gefundene blauen Farbstoff producirende neue Formen. Bacillus coeruleus bildet blaugrauen Farbstoff, B. indigoferus ist interessant, weil in der Umgebung seiner Colonien blaue Pigmentkörnchen[1] erscheinen. Ausserdem beobachtete Verf. auch den oben an 5. Stelle genannten B. violaceus, den B. janthinus und reiht hier einige Untersuchungen über den von FISCHER im Wasser von Plymouth gefundenen rothen Bacillus an. Interessenten seien auf das Original verwiesen. Leider scheint dem Verf. die eben citirte Arbeit von BEYERINCK, die unseres Erachtens auf die Fragestellung seiner Arbeit einen vortheilhaften Einfluss hätte üben können, nicht gekannt zu haben.

---

[1]) Vgl. BEYERINCK: Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 78.

Konservirungsmethoden, Antiseptika etc.

Plagge und **Trapp** (193) stellten aus den Patentschriften der grösseren Staaten die verschiedenen Methoden der Fleischkonservirung zusammen. Eine brauchbare Fleischkonserve darf nicht faulen und muss annähernd den vollen Nährwerth frischen Fleisches haben, sich in Aussehen, Geruch oder Geschmack vom frischen oder frisch zubereiteten Fleisch nicht unterscheiden, grösste Haltbarkeit auch unter ungünstigsten Bedingungen haben, Mannigfaltigkeit der Zubereitung ermöglichen; die Verpackung muss leicht und leicht zu öffnen sein, der Preis des konservirten Fleisches soll nicht erheblich höher sein, als der des frischen und selbst dauernder Genuss des konservirten Fleisches darf nicht nachtheilig auf die Gesundheit einwirken. Keine Konservirungsmethode genügt allen diesen Ansprüchen aber die neueren Sorten von Büchsenkonserven kommen ihnen nahe.

Die Produkte der durch Wasserentziehung wirkenden Methoden sind für den europäischen Geschmack nicht wohlschmeckend genug und nicht unter allen Umständen haltbar. Die Kälteverfahren sind durch die Bedingung der Dauer der Abkühlung zur Zeit noch zu theuer und nicht überall anwendbar. Luftabschluss durch Ueberzug giebt unsichere Resultate. Büchsenfleisch hat den Nährwerth aber in den billigeren für die breite Masse des Volkes in Betracht kommenden Qualitäten nicht den Geschmackswerth frischen Fleisches und ist durch seine Verpackung und durch sein rasches Verderben nach Oeffnung der Büchsen zu theuer. Bis jetzt ist kein Antiseptikum bekannt, welches das Fleisch bei voller Beibehaltung des Nährwerthes und der äusseren Eigenschaften ohne durch dauernden Genuss schädlich zu wirken, mit Sicherheit konservirt. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Trapp (215) giebt ebenfalls eine tabellarische Uebersicht der Patente über Fleischkonservirung. Die Zahl der gesammelten Konservirungsverfahren beträgt 664. Kritische Bemerkungen über einzelne Verfahren gründen sich zum Theil auf eigene Versuche des Verf. Dieselben ergaben, dass Fäulnissbakterien wesentlich in der Richtung der Bindegewebszüge und zwar leichter in der Längs- wie in der Querrichtung eindringen; sie bestätigen ferner, dass das Fleisch gesunder Thiere im Allgemeinen im Innern keimfrei ist und die Zersetzung von aussen nach innen fortschreitet. Beim Fleisch der Schlachtthiere liegen die Verhältnisse deshalb besonders günstig weil der hauptsächlichste Ausgangspunkt der Cadaverfäulniss, der Darm und sein Inhalt beim Schlachten unmittelbar nach dem Tode entfernt wird und damit jede Gelegenheit zum Eindringen von Mikroben auf dem sonst gewöhnlichen Wege vom Darm in die Blutgefässe und von da in das Innere der Organe fortfällt. Auch dass der Tod der Thiere durch Verbluten stattfindet ist günstig, weil dadurch die Ausbreitung der Fäulnissorganismen durch

die grossen Gefässe beschränkt wird. Es kommt demnach bei der Fleischkonservirung hauptsächlich nur darauf an, die Oberfläche steril zu halten und wird meist genügen diese Oberfläche vor Zersetzung zu schützen um auch das Innere der Einwirkung der Bakterien zu entziehen. Deshalb wirken auch recht schwache antiseptische Methoden z. B. blosses Aufhängen in gut ventilirten Räumen schon ganz gut. Deshalb müssen auch alle Seiten des Fleisches dem entwickelungshemmenden Mittel zugänglich sein und dürfen z. B. nicht Fleischstücke auf einander gepackt werden.

Die antiseptische Wirkung einiger Gase und Dämpfe untersucht Verf. in der Weise, dass er Gelatine oder Agar in Röhrchen mit faulem Fleische inficirt, die umgekehrten Röhrchen mit Wasser oder Quecksilber sperrt und die antiseptischen Substanzen dann gasförmig in das Röhrchen einführt oder auf der Sperrflüssigkeit schwimmen lässt. Die antiseptische Wirkung muss sich dann durch Ausbleiben des Bakterienwachsthums in den oberflächlichen Substratschichten bemerkbar machen. H, O, CO_2, Leuchtgas, CO, Stickoxydul, Schwefelsäure, Salpetersäure, Salzsäure, Lysol, Anilinöl, Benzoe-, Zimmt-, Propion-, Milch- und Buttersäure, Thymol, Naphthalin und Chinolin hatten keinen, Essigäther fast keinen antiseptischen Effekt, dagegen zeigten Valeriansäure, Terpentinöl, Benzin, Petroläther und Ameisensäure 1 mm, Kümmeloel 2 mm, Lavendeloel und Jod 3 mm, Anisöl 4 mm, Aether 5-10, Schwefelkohlenstoff, Kampfer, Patchuli 5, ätherisches Thieroel 7, Karbolsäure, Amylalkohol, Toluol, Pyridin 10, Essigsäure, Paraldehyd, Aethylenchlorid, Benzol, Schwefelwasserstoff, Aethylalkohol, Zimmtöl, Aceton, Stickoxyd 15, Brom 16, Chlor 17, Senfoel 21, Chloroform 17-25, schweflige Säure 27, Amylnitrit 18-30, Ammoniak 40 mm wirksame Eindringungstiefe. Eigenthümlich verhalten sich Dämpfe konzentrirter Essigsäure. Bei grossem Abstande des Nährbodens von der Essigsäure blieb jede Wirkung aus; bei geringem Abstande wirkten die Dämpfe kräftig antiseptisch. Je nach dem Abstande drangen die Dämpfe verschieden tief ein, während bei anderen Stoffen der Abstand gleichgültig war.

Die Methoden der Fleischkonservirung beruhen auf folgenden Prinzipien:

I. Wasserentziehung. 1. Luftstrom, a. an der freien Luft, b. in besonderen Vorrichtungen. 2. Austrocknen durch stagnirende Luft, deren Feuchtigkeit durch chemische oder physikalische Mittel absorbirt wird, bezw. Auspressen des Fleisches.

II. Kälte. Gefrieren lassen. Lagern auf Eis, in besonderen Kühlräumen oder in abgekühlten festen Medien z. B. Sand.

III. Luftabschluss. A. Luftdichter Ueberzug 1. pflanzlichen Ursprungs: Gummi, Zucker, Melasse, Sirup, Papierbrei, imprägnirte Gewebe, Kollodium, Harz, Oel. 2. thierischen Ursprungs: Leim, Gelatine, Hausenblase, Fleischextrakt, Casein, Membran, Fett, Wallrat. 3. mineralischen Ursprungs: Gips

Cement, Wasserglas, Calciumborat, Borfluorid, Salzkrystalle, Teercement, Paraffin, Vaseline, Asphalt, Zinnfolie. B. Einschluss in luftdichte Gefässe, entweder mit vorhergehender oder nachfolgender Keimtödtung oder mit nachfolgender Entfernung der Luft bezw. Ersatz derselben durch andere Gase.

IV. Antiseptika. A. gas- und dampfförmige. 1. Anorganische: SO_2, CO_2, NO, Cl, NH_3, Ozon, CO und Dämpfe einer KHO, $KClO_3$, $KClO_2$ und $Mn_2 O_3$ enthaltenden Paste. 2. Organische: Rauch, Alkoholdampf, Aldehyd, Aether, Chloroform, Eisessig, Salpeterester, CS_2, Benzin und niedere Kohlenwasserstoffe, Harzdämpfe. B. Flüssige Antiseptika: Starke Kochsalzlösung, wässerige Lösungen antiseptischer Gase, Sulfate, Melasse, Phosphate, Fe-Salze, Mg-Salze, Al-Salze, Borsäure, Borate, CrO_3, J, SiF_4, $H_2 O_2$; Produkte der trocknen Destillation von Holz und Steinkohle (Kienruss, Holzessig, Phenole), Alkohol, Aldehyd, Glycerin, Essigäther, Chloral, Essigsäure, Acetate, Wein-, Milch-, Ameisen-, Gerb-, Salicyl-, Benzoesäure, Gewürzaufguss, Kaffeeinfus, Senföl, Thymol, Kaliumxanthogenat, Wickersheimer'sche Flüssigkeit.

Auf Grund eigener Versuche macht Verf. folgende kritische Bemerkungen. Zur Konservirung durch Wasserentziehung (88 Patente) wird bemerkt, dass das an freier Luft getrocknete Fleisch obwohl Fäulniss nicht eintritt, doch als Nahrungsmittel nicht verwendbar ist, da nicht näher bekannte Struktur- und Geschmacksveränderungen es für den Europäer ungeniessbar machen.

Von flüssigen Antisepticis prüfte Verf. das $H_2 O_2$. In 5prozentiger Lösung nahm Fleisch bald grauweisse Farbe an, nach 24 Stunden war es roth wie Fleischwasser und roch wie dieses; nach 48 Stunden trat unangenehmer Geruch auf, am dritten Tage deutliche Fäulniss.

Kälteverfahren sind wegen der nöthigen Dauer der Abkühlung noch zu theuer und nicht überall anwendbar. Luftabschluss durch Ueberzug giebt unsichere Resultate. Büchsenfleisch hat den Nährwerth, aber in den billigeren, für breitere Volksschichten in Betracht kommenden Qualitäten nicht den Geschmackswerth frischen Fleisches und ist durch die Verpackung und durch das rasche Verderben nach der Oeffnung zu theuer.

Noch ist kein Antiseptikum bekannt, welches das Fleisch bei voller Beibehaltung des Nährwerthes und der äusseren Eigenschaften ohne durch dauernden Genuss schädlich zu wirken sicher konservirt. (Chem. Centralbl.)

Zörkendörfer (219) untersucht die Bakterienarten, welche bei dem Verderben der Hühnereier betheiligt sind. Diese Frage ist von praktischer Bedeutung, da im Detailverkauf nicht selten $^1/_5$ der Eier zum Genuss ungeeignet sind. Der Verf. bestätigt in mehreren Punkten Schrank[1]. Nicht alle verdorbenen Eier sind wirklich faul, wie man im gewöhnlichen Leben

[1]) Wiener med. Jahrbuch 1888.

sagt, sondern es sind hier offenbar sehr verschiedene Vorgänge im Spiele. Nicht alle verdorbenen Eier haben H_2 S-Geruch, manchmal überhaupt keinen Geruch, sondern nur seifigen Geschmack. Allgemein sind verdorbene Eier nicht durchscheinend, später sinken sie im Wasser langsam oder gar nicht unter; in ihrem Innern sammeln sich Gase oft in solcher Menge an, dass Ueberdruck entsteht, der das Ei zum Platzen bringen kann oder Flüssigkeit durch die Schale presst. Diese Gase enthalten Schwefelwasserstoff. Nach ihren Eigenschaften lassen sich verdorbene Eier meist einem der folgenden beiden Typen unterordnen.

1. häufigerer Typus: Eiweiss anfangs mehr dünnflüssig, trübt sich, wird weisslich grau, dann graugrün. Der Dotter wird missfarbig, ockergelb, verwandelt sich dann in eine schwarzgrüne schmierige Masse. Dann wird der ganze Eiinhalt eine gleichmässig dickflüssige schwarzgrüne Masse, die später breiig und fest werden kann und den charakteristischen Gestank nach Schwefelwasserstoff zeigt.

2. Typus. Anfangs ähnlich wie vorhergehender, doch geht die Farbe nicht in grün, sondern in licht-ockergelb über. Dotter und Eiweiss zeigten sich bei typischer Veränderung immer gemischt. Der Inhalt ist anfangs dünnflüssig später breiig. Geruch nach menschlichen Faeces.

Von 80 verdorbenen Eiern, die Verf. untersuchte, waren 5 verschimmelt, davon nur 2 ohne Bakterien, 38 nach Typus I, 20 nach Typus II, die übrigen in anderer Weise verdorben.

Die Bakterien gelangen in die Eier dadurch, dass sie selbstständig gewisse Stellen der Schale durchdringen. Verf. zeigte dies z. B. dadurch, dass er mit Bouillon gefüllte Eischalen in Bouillon stellte und letztere mit leicht kenntlichen Bakterien, wie B. prodigiosus impfte. Es fanden sich dann diese Bakterien auch in der Bouillon im Innern der Schale und einzelne intensiv gefärbte Flecke waren aussen und innen an der Schale zu bemerken und durchsetzten die ganze Dicke derselben. Aus Letzterem folgt, dass die Bakterien nicht über den Rand der Schale hinüber gewachsen waren. Auch wenn man ausgeblasene Eier mit Gelatine füllt und sie auf faule Eimasse legt findet man auf der Seite, welche auflag, isolirte Bakterienkolonien. Auch wenn man unverletzte Eier in Bouillonreinkulturen legt, findet man nach einigen Tagen die betreffenden Bacillen im Ei, während es Verf. nicht gelang durch Druck Bakterien aus Bouillon in das Ei zu pressen, wie dies mit Farblösungen möglich ist.[1]

Der Nachweis der Bakterien in dem verdorbenen Eiinhalt gelingt besser mit Methylenblau als mit anderen Farbstoffen. Die betreffenden

[1]) Die Bakterien wachsen also offenbar durch die Schale hindurch. Vgl. die Erfahrungen bezüglich der CHAMBERLAND-Filter z. B. in Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 19.

Bakterien wurden in Reinkultur auf Schwefelwasserstoffbildung besonders geprüft. Zu dem Zweck wurde ein Bleizuckerpapier in das Röhrchen gehängt oder der Wattepfropf mit Bleizuckerlösung und etwas Alkohol befeuchtet. Um Kulturen in nicht erstarrtem Eiinhalt anzustellen empfiehlt Verf. besonders das Eiweiss aus dem aufgeschlagenen Ei in ein ERLENMEYER'sches Kölbchen zu giessen, dann den Dotter auf die Mündung des Kölbchens zu legen und letzteres in Eiswasser zu stellen. Der Luftdruck drückt dann den Dotter unverletzt in das Kölbchen, eventuell kann man auch den Kölbchenhals mit den Lippen umschliessen und den Dotter so hineinblasen. Schliesslich wird an drei aufeinander folgenden Tagen mehrere Stunden bei 55^{0} sterilisirt. Das Eiweiss wird dann zwar weisslich trübe, behält aber seine Consistenz bei und verändert sich nach der Impfung typisch wie frische Eier.

Bei dieser Sterilisirungsmethode erwiesen sich absichtlich vorher geimpfte Eierkölbchen als steril, nur der aus faulen Eiern gezüchtete Bacillus δ hatte Sporen, die dieser und auch der üblichen diskontinuirlichen Sterilisirung widerstanden.

Die häufiger in verdorbenen Eiern gefundenen Bakterien lassen sich in zwei Gruppen ordnen:

1. Schwefelwasserstoff bildende

2. Grünen und fluoreszirenden Farbstoff erzeugende Eier einer Lieferung zeigten häufig dieselben Bakterien während in neuen Lieferungen wieder ganz andere vorkamen; es spricht dies für eine gemeinsame Infektion der von demselben Orte stammenden Eier. Manche der Bakterienarten fanden sich in vielen Fällen, manche nur vereinzelt.

Die Schwefelwasserstoff bildenden Bakterien finden sich in allen wirklich faulen Eiern. Manche bewirken schon in wenigen Tagen typische Fäulniss, andere verändern die Eier wohl so, dass sie als verdorben zu bezeichnen sind, bewirken aber auch nach Monaten keine eigentliche Fäulniss. Die Bakterien der zweiten Gruppe bilden einen schön lichtgrünen Farbstoff der das Eiweiss färbt und machen das Substrat blau fluoresziren. Eine dem Verf. nur einmal vorgekommene Art bildet zugleich Schwefelwasserstoff und ruft in geimpften Eiern Fäulniss hervor. Auf die Färbung der faulen Eier scheinen diese Bakterien keinen Einfluss zu haben, da sie auch in den gelben Eiern des oben beschriebenen zweiten Typus vorkommen, andererseits Schwefelwasserstoff bildende, aber keinen Farbstoff bildende Bakterien für sich allein im Stande sind die schmutzig grüne Farbe der Eier des ersten Typus hervorzubringen. Der grüne Farbstoff wird von den Bakterien der zweiten Gruppe nur bei niederer Temperatur gebildet und verschwindet beim Ansäuern, kommt aber bei Zusatz von Alkali wieder.

Der Verf. beschreibt nun seine Bakterien unter den Namen Bacillus oogenes hydrosulfureus $\alpha, \beta, \gamma, \delta, \varepsilon, \xi, \eta, \vartheta, \iota, \varkappa$ und B. oogenes fluorescens $\alpha, \beta, \gamma, \delta, \varepsilon$.

Anaërobiotische Formen fand Verf. gar nicht, alle von ihm beschriebenen sind streng aerobiotisch; alle seiner Arten bis auf zwei gehen über 40° in 1-2 Tagen zu Grunde. Auffallend schneller und häufiger faulen Eier, die in feuchter Luft aufbewahrt werden, weil dadurch offenbar den auf der Schale sitzenden Bakterien die Vermehrung und das Eindringen erleichtert wird. In Brüttemperatur faulen die Eier kaum rascher als bei Zimmertemperatur.

Nach dem Gesagten würde man Eier konserviren können, wenn man sie 1-2 Tage bei 50° hielt und dann trocken aufbewahrte. Weit sicherer ist es, den Sauerstoff der Luft von den Eiern abzuhalten und daher den aerobiotischen Eierbakterien das Leben unmöglich zu machen. Auf dieses Prinzip läuft offenbar die übliche Aufbewahrung der Eier in Kalkwasser hinaus, welches Mittel zugleich die auf den Eiern sitzenden Bakterien tödtet. Verf. impfte Eier mit eierverderbenden Bakterien und lackirte einen Theil dieser Eier mit Firniss. Dieselben waren nach zwei Monaten noch gut, während die unlackirten in wenig Tagen verdarben. Er empfiehlt dieses einfache Mittel daher für die Praxis.

Heim (173) bemerkte, dass gewöhnliche Fleischwasserpeptongelatine sich durch an drei Tagen wiederholte fraktionirte Sterilisation nicht keimfrei machen liess. Die betreffenden resistenten Formen waren zweierlei Art, beide mit Endosporenbildung. Die dünnere Art starb in der dritten Stunde im strömenden Dampfe ab, die dickere erst nach 7 Stunden. Nach mehreren Umzüchtungen scheint sich die Widerstandsfähigkeit zu verringern. Bei 1 Atmosphäre Dampfdruck ging letztere Form in 15 Minuten zu Grunde. Die biologischen Eigenschaften dieser Formen wird Stammler untersuchen. Da eine Art der genannten Bakterien mit gewissen Bodenbakterien in mehrfacher Beziehung übereinstimmte, führt Verf. den Vorfall auf Verunreinigung der Gelatinetafeln mit Erde zurück, denn nur eine gewisse Portion der Gelatinetafeln zeigte die Erscheinung.

Swan (212) fand, dass die aus einer Hängetropfenkultur stammenden, am Deckglas angetrocknet seit März 1886 aufbewahrten Sporen von B. Megaterium im November 1890 in 1 von 20 Hängetropfen, im Dezember 1891 aber gar nicht mehr keimten.

Nourry und **Michel** (190) finden, dass mit Kohlensäure unter Druck gesättigte und dann kalt gehaltene Milch erst nach 8 Tagen koagulirt, während gewöhnliche Milch dies in 48 Stunden thut. Dieselbe Kohlensäuremilch auf 45, 65 oder 80° gebracht gerinnt unter den gewöhnlichen Umständen. Bei 120° gerinnt sie sofort. Hieraus wollen die Verf. folgern, dass Kohlensäure nicht die „Mikroben" tödte, sondern nur ihre Entwicklung hemme.

Christmas (148) prüft die antiseptische Kraft des Ozons, welches er meist mit Hülfe von elektrischer Entladung darstellt und dessen Menge

er mittelst Jodkalium bestimmt. Er hielt Agar- oder Bouillonkulturen von sporenfreiem Bacillus anthracis, Staphylococcus aureus, Bacillus typhi, diphtheriae oder Sporen von Aspergillus niger 5 Tage lang in einer Atmosphäre die 0,061-0,1 Vol $^0/_0$ Ozon enthielt; die Organismen waren mit Ausnahme von Aspergillus dann stets todt. Milzbrand in frischer Kultur wird in einer Atmosphäre, die 1,5-2 mg Ozon im Liter enthält in 24 Stunden nicht geschädigt, in 48 Stunden geschädigt und in 96 Stunden getödtet. Sporen eines Bacillus subtilis wurden, wenn sie an einem Deckglas angetrocknet dem Ozon ausgesetzt wurden, erst nach 8-10 Tagen, in Bouillon dagegen überhaupt nicht getödtet. Die hiernach festgestellte desinfizirende Kraft des Ozons wird aber gleich Null, sobald seine Menge in der Luft unter 0,05 Vol. $^0/_0$ sinkt. In einem 6 Kubikmeter fassenden Raume wurde eine Atmosphäre mit 0,5 mg Ozon im Liter erzeugt, die in Folge dessen stark roch und kaum zu athmen erlaubte. Darin wuchsen aber Bakterienkulturen ganz normal und Fleisch, Früchte und Aehnliches faulten wie unter gewöhnlichen Verhältnissen.

Herman (175) kommt bei Versuchen mit B. coli zu gleichen Resultaten wie OHLMUELLER[1]. (Centralbl. f. Bakteriol.)

de Freudenreich (161) knüpft an eine Arbeit von RIGLER an, wonach man in einem Raume von 100 Cubikmeter nur 1 Kilo Ammoniak verdampfen zu lassen brauche, um selbst Milzbrandsporen in trockner Leinwand binnen drei Stunden und in feuchter Leinwand binnen acht Stunden abzutödten. Da demnach dieses Desinficiens eine grosse praktische Bedeutung zu haben versprach, prüfte Verf. die Angaben RIGLER's durch eigene Untersuchungen, kam aber zu einem ganz anderen, ungünstigen Resultat, ohne den Grund für diese Abweichung angeben zu können.

RIGLER fand z. B. in einem anderen Versuche, dass die Sporen des Bacillus anthracis, welche an Fäden angetrocknet waren, abstarben in einem etwa 100 Cubikmeter fassenden Zimmer, in dem in 8 Stunden 450 cc Ammoniak verdampften.

Verf. experimentirte mit Staphylococcus pyogenes aureus, Bacillus anthracis (Sporen), Tyrothrix tenuis, die an Filtrirpapierstücken angetrocknet in verschiedener Höhe bis zu 24 Stunden in einem 12,5 Cubikmeter haltenden Zimmer bewahrt wurden, in dem 400 cc von 1 Kilo flüssigen Ammoniaks von 0,918 spez. Gewicht verdampft waren, wobei der Ammoniakgehalt der Flüssigkeit von 22,39 auf 1,21 $^0/_0$ Ammoniak heruntergegangen war. Auch die 24 Stunden so behandelten Bakterien vermehrten sich nachher in Bouillon gebracht kräftig und dasselbe Resultat gab ein anderer eben so lange laufender Versuch in einem 50 Kubikmeter grossen Zimmer, worin 1 Liter Ammoniak von 31,75 $^0/_0$ gebracht wurde; hier wurde auch

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 72.

der Mikrokokkus der fadenziehenden Milch, den GUILLEBEAU[1] beschrieb geprüft.

Weiter ging Verf. zu Versuchen mit grösseren Mengen Ammoniak über und prüfte Bacillus typhi, Staphylococcus pyogenes aureus, den Micrococcus, der Milch lang macht und einen neuen, der der Milch einen bitteren Geschmack ertheilt und sie coagulirt. Verwendet wurde dabei ein Kasten, der $^1/_2$ Kubikmeter fasste und in den 100 cc der ebengenannten starken Ammoniakflüssigkeit (31,75 $^0/_0$) gebracht wurden. Der Versuch lief bis zu 24 Stunden, die Bakterien waren nicht getödtet. Dann wurde in einem weiteren Versuch die doppelte Menge Ammoniak in den Kasten gebracht und die Einwirkung 48 Stunden fortgesetzt. Trotzdem das Papier an dem der Micrococcus der langen Milch angetrocknet war, schon im vorigen Versuch 24 Stunden exponirt wurde, waren auch hier die sämmtlichen untersuchten Bakterienformen nicht getödtet, nur Bacillus typhi entwickelte sich nach 24 Stunden Exposition langsamer, nach 48 Stunden nicht mehr.

Der Verf. machte noch Versuche in verschlossenen Flaschen von 1 Liter Rauminhalt um grössere Mengen Ammoniak wirken lassen zu können. Es zeigte sich, dass Sporen von Bacillus anthracis wenn 5 cc Ammoniak in den Literkolben gegeben waren auch nach 48 Stunden noch keimten, bei 10 cc nach 8 Stunden immer keimten, nach 24 Stunden nur dann todt waren, wenn das Material vorher schon in dem ersterwähnten Zimmer der Ammoniakwirkung ausgesetzt gewesen war.

Besser waren dagegen die Resultate, wenn Bacillus typhi und der Staphylococcus den Ammoniakdämpfen ausgesetzt wurden, da dieselben bei 2 cc Ammoniak im Literkolben nach 1-3 Stunden schon todt waren; ausnahmsweise widerstand der Staphylococcus aber 6 Stunden. Jedenfalls sind aber auch diese Mengen Ammoniak selbst abgesehen davon, dass sie sporenbildende Bakterien nicht tödten, noch zu gross um in der Praxis anwendbar zu sein.

Im Literkolben zeigten auch selbst $^1/_{20}$ und $^1/_{10}$ cc Ammoniak von 22,39 $^0/_0$ noch etwas entwicklungshemmende Wirkung auf die letztgenannten beiden Bakterien, aber die Praxis muss sich an die Versuche mit Kasten halten und nach diesen ist Ammoniak ein praktisch nicht mit Erfolg zu benutzendes Desinfiziens.

Attfield (131) setzte Isarwasser, welches unterhalb München geschöpft und reich an Infusorien (Paramaecium) war zu bakterienreichem Brunnenwasser und verfuhr ebenso mit infusorienfreiem, oberhalb München entnommenem Isarwasser. Er fand immer eine erhebliche Verminderung der Bakterienzahl unter dem Einfluss der Infusorien. (Chem. Centralbl.)

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 185.

Blum (136) fand, dass Formaldehyd selbst in starken Konzentrationen die Lebensfähigkeit der Mikroorganismen nur langsam aufhebt, dass aber schon ganz schwache Lösungen genügen um Fäulniss und Fortentwicklung von Pilzen zu verhindern unter allmähliger Abtödtung der Bakterien. 1 Tropfen Formaldehyd enthaltend 0,02 g wirksamer Substanz verhinderte wochenlang jede Pilzwucherung in offen im Brutschranke stehender Bouillon; auch die 10fache Verdünnung dieser Bouillon blieb dauernd keimfrei. Die Beeinflussung der Mikroorganismen durch den Formaldehyd muss sofort bei dem Kontakte beginnen; versetzt man 10 ccm Traubenzuckerlösung mit 0,2 g Hefe und 1 Tropfen Formaldehyd, so zeigt sich keine Gasentwicklung. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Gegner (165) giebt an, dass Formalin in Lösung die gebräuchlichen starken antibakteriellen Mittel nicht übertrifft, dass aber seine Dämpfe sehr energisch wirken. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Hauser (171) fand, dass Formalindämpfe auch tief in Gelatine gelegene Colonien schnell tödten. So kann man Platten- und Reagensglaskulturen fixiren und aufbewahren zumal auch die verflüssigte Gelatine durch das Formalin fest wird, ohne dass das Auge diese Veränderung bemerkt. Verf. bringt zu diesen Zwecken in den Deckel der Petri'schen Schalen Fliesspapier mit 10-15 Tropfen Formalin und stellt sie in eine feuchte Kammer, in der auf Watte etwa 15 Tropfen Formalin pro Liter Rauminhalt geträufelt werden. Reagensglaskulturen werden mit losem Wattepfropf verschlossen, an dessen unteres Ende 10 Tropfen Formalin gebracht werden. Die Röhren stellt man in ein verschlossenes Glas, auf dessen Boden Watte mit 50-60 Tropfen Formalin pro Liter Rauminhalt gebracht wird. Man verwende nur frisches, unzersetztes Formalin. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Hauser (172) konstatirt weiter, dass Gelatine, die längere Zeit Formalindämpfen ausgesetzt wurde, selbst im Bunsenbrenner nicht mehr verflüssigt wird und dass auf ihr keine Bakterien mehr wachsen. Um Kulturen aufzuheben behandelt Verf. Platten mit Formalindämpfen, schneidet dann die Colonien mit der Gelatine heraus, bringt sie unter das Deckglas, umzieht dies mit Gelatine und legt das Präparat in eine Formalinkammer. In sehr schwacher wässeriger Fuchsinlösung lassen sich die Colonien in den Gelatineplättchen färben. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Lehmann (186) fand, dass eine 40 % Formaldehydlösung Choleravibrionen und Staphylococcus pyogenes aureus in $^3/_4$ Stunden tödtete, B. prodigiosus und Milzbrandsporen in $^3/_4$ Stunden in der Entwicklung hemmte und nach 1 Stunde tödtete. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Stahl (210) findet, dass Milzbrandsporen und Sporen aus Gartenerde von 1 : 1000 Lösung von Formalin (enthaltend 40 % Formaldehyd) in 1 Stunde, von 1 : 750 Lösung in $^1/_4$ Stunde getödtet werden. Das Formalin

soll demnach ein Stoff von den antibakteriellen Eigenschaften des Sublimats aber ohne dessen Giftwirkung sein, welcher in eiweisshaltigen Lösungen demselben sogar überlegen ist. Die Formalinlösungen können auf ihren Gehalt an Formaldehyd durch Titration mit Ammoniak (Bildung von Hexamethylentetramin) unter Anwendung von Rosolsäure geprüft werden. (Chem. Centralbl.)

Stettner (211) erwähnt, dass nach Untersuchungen von Harz und von Miller das Antinonnin der Firma Bayer & Cie in Elberfeld (o-Dinitrokresolkalium) in einer Verdünnung von 1,5-8 : 1000 in Gelatinenährböden das Wachsthum pathogener Bakterien verhindert. In sehr verdünnten Lösungen hemmt es die Entwicklung von Mikroorganismen, in konzentrirten tödtet es sie. Das Mittel hat den Vorzug nicht flüchtig wie die Kresole zu sein. Es wird auch zum Anstreichen von Gährkellern empfohlen. (Chem. Centralbl.)

d'Arsonval und **Charrin** (123) studiren den Einfluss eines 800 000 Oscillationen in der Sekunde machenden durch ein Solenoid gehenden elektrischen Stromes auf Bacillus pyocyaneus, nachdem der Eine von ihnen gezeigt hat, dass in Organismen (höhere Thiere, Hefe), welche in das Innere des Solenoids gebracht werden, sich Induktionsströme bilden, die jedes Molekül umkreisen. Die Verf. wenden nun dasselbe Verfahren auf den Bacillus pyocyaneus an, da die bisherigen Resultate über den Einfluss der Elektricität auf Bakterien sich widersprechen und dabei meist der Strom indirekt, durch Produktion von Wärme oder durch Abspaltung eines Körpers wirkte, während bei ihrer Versuchsanordnung der Strom allein und unmittelbar wirkte.

Sie bringen eine Kultur des B. pyocyaneus auf 10, 20 und 60 Minuten in das Solenoid und impfen jeweils auf Agar ab. Der Bacillus zeigt sich hinsichtlich Form und Vermehrungsfähigkeit und pathogener Wirkung nicht verändert wohl aber hinsichtlich Farbstoffproduktion, denn während die unbehandelte Controllkultur und die des nur 10 Minuten behandelten Bacillus stark blaugrün erscheinen, zeigen die beiden anderen nur einen schwachen grünlichen Schimmer.

d'Arsonval und **Charrin** (125) sehen sich veranlasst die Versuchsanordnung ihrer eben beschriebenen Beobachtung anzugeben. Sie verwenden einen Commutator (alternateur Siemens), einen Transformator und vier Leydener Flaschen von 30 cm Höhe und 12 cm Breite. Der Commutator ertheilt den primären Windungen des Transformators einen Wechselstrom von 60 Perioden in der Sekunde, was 17 Ampère und 100 Volt ergiebt. Der sekundäre Strom hat 10 000 Volt. Der Gasmotor ist 4 Pferdekräfte stark. Das Solenoid besitzt 15-20 Windungen eines 3 mm starken Kupferdrahtes. Die Kulturschicht darf nicht zu dick sein, denn sonst schliessen sich die in der Peripherie entstehenden Ströme in sich und schützen das Centrum der

Kultur vor der Wirkung der Elektrizität. Deshalb benutzen die Verf. zwei konzentrisch in einander steckende Röhren, zwischen deren Wänden sich die Kultur befindet; das centrale Rohr kann zur Aufnahme von Kühlflüssigkeit dienen, denn Temperatursteigerung muss vermieden werden.

Durch weiter fortgesetzte Wirkung eines solchen Stromes soll auch die Vermehrungsintensität des Bacillus leiden.

Krueger (181) ist bei Nachprüfung der Spilker-Gottstein'schen[1] Versuche über die Wirkung des elektrischen Stroms auf Bakterien zu keinem sicheren Resultat gelangt. Wirkt der konstante Strom direkt auf das Nährsubstrat ein und umkreist es nicht nur, so wird selbst in tagelangen Versuchen B. pyocyaneus nicht geschädigt. Auch Cholerakulturen in Bouillon hielten fünf Tage lang den Strom von 80-20 M. A. aus. Nur Wachsthumshemmung war zu bemerken. Feste Nährböden gaben dasselbe Resultat. Dagegen können durch Elektrolyse die verschiedensten Bakterien abgetödtet werden, wobei Stromstärke, Stromdichte und Zeitdauer von massgebendem Einflusse sind. Bei gleichbleibenden Elektroden und gleichbleibender Entfernung derselben von einander muss um gleiches Resultat zu erzielen, beim Wachsen der Stromstärke die Zeitdauer verringert werden. Stromstärke und Zeitdauer sind umgekehrt proportional. Farbstoffbildende Saprophyten wurden mittelst einer Stromstärke von 20 M A in 24 Stunden vernichtet. Pneumokokken gingen bei 3000 M A in 15 Minuten zu Grunde. Sporenhaltiger Milzbrand und Tetanus wurden nach 24stündiger Elektrolyse bei 20 M A für Mäuse unwirksam ebenso Tuberkelbacillen für Meerschweinchen. (Chem. Centralbl.)

d'Arsonval und **Charrin** (124) setzen Kulturen des Bacillus pyocyaneus einem Drucke von 50 Atmosphären in Kohlensäure 2, 4, 6, und 24 Stunden aus. Nach zweistündiger Einwirkung ist die Farbstoffproduktion nicht, wohl aber die Vermehrungsintensität etwas geschädigt; nach vierstündiger Behandlung wird auch fast kein Farbstoff mehr gebildet, nach sechsstündiger wird nur selten noch Wachsthum beobachtet und die Bakterien sind dann viel dünner, so dass hier Formänderungen unter dem Einfluss des Druckes zu bemerken sind. Nach 24 Stunden Druckwirkung ist Alles todt. Durch Druck wird also zuerst die Vermehrungsfähigkeit, dann die Farbstoffproduktion geschädigt, während es bei der Wirkung elektrischer Ströme (s. oben) umgekehrt ist. Der Milzbrandbacillus ist schwächer wie der B. pyocyaneus, denn er wird nach Chauveau schon durch 12 Atmosphären vernichtet und in Mischkulturen der beiden genannten Formen wird der Milzbrandbacillus durch die Produkte seines Concurrenten stark geschädigt.

d'Arsonval und **Charrin** (122) betonen von Neuem die Wichtigkeit

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 96.

der unter Druck stehenden CO_2 für die Sterilisation bei niederer Temperatur, weil dabei die Eiweissstoffe nicht alterirt werden. Weiter haben die Verf. auch die Wirkung des aus reinem Sauerstoff hergestellten Ozons (1,2 % Gehalt an Ozon) auf Oospora Guignardi, einen in der Luft vorkommenden Pilz, und auf Bacillus pyocyaneus untersucht, weil letzteres Bakterium durch Aenderungen der Farbstoffproduktion schon geringen Einfluss der Versuchsbedingungen zu bemerken gestattet. Sie liessen den Ozonsauerstoff Blase für Blase durch die bakterienhaltige Bouillon gehen und finden dass schon nach einer Viertelstunde bei 10° der Bacillus grösstentheils die Fähigkeit der Farbstoffbildung verloren hat und die Oospora nur noch schwach wächst.

d'Arsonval und **Charrin** (126) finden bei Gelegenheit von Versuchen über die Wirkung von thierpathogenen Bakterien auf Pflanzenzellen, dass Bacillus pyocyaneus die Gährthätigkeit der Hefe in Zuckerlösung bei 37° aber nicht bei 10° stark herabsetzt. Dieser Temperatureinfluss dürfte darauf zurückzuführen sein, dass bei 37° der B. pyocyaneus sich in optimaler Temperatur befindet, während bei 10° die von der Temperaturerniedrigung wenig berührte Hefe sich dem Bacillus gegenüber im Vortheil befindet. Zur Beurtheilung der Gährungsintensität benutzen die Verf. eine sehr einfache Vorrichtung; sie verschliessen das Kulturglas mit einem Kork, durch den ein offenes Glasrohr geht und in die Flüssigkeit taucht; die Gährungskohlensäure drückt Flüssigkeit aus dem Glase heraus und der Stand der Flüssigkeit giebt die Gährungsintensität an.

d'Arsonval und **Charrin** (127) untersuchen weiter, ob diese Wirkung des B. pyocyaneus auf Hefe auf vitaler Konkurrenz oder nur auf dem Einfluss der Produkte des Bacillus beruht. Letzteres wäre trotz des im vorigen Referate erwähnten Temperatureinflusses möglich, weil von manchen hindernd wirkenden Substanzen bekannt ist, dass ihr Einfluss bei niederer Temperatur fast aufhört. Die Verf. giessen in Gläser gleich viel Hefe enthaltende Zuckerlösung und füllen das erste Glas dann mit Wasser, das zweite mit lebender Kultur von B. pyocyaneus, das dritte mit der nach d'Arsonval[1] durch flüssige CO_2 getödteten Kultur, das vierte mit durch Filterkerze keimfrei gemachter Kultur, die also nur die löslichen Stoffwechselprodukte des B. pyocyaneus enthält. Glas II gährt bei 37° dann gar nicht, III und IV aber stärker wie I. Der Bacillus selbst hindert also die Gährung während seine Produkte sie sogar beleben. Nach 8-10 Stunden hebt aber auch in Glas II die Gährung an und schreitet langsam vor. Dies kommt wahrscheinlich daher dass die Hefe den stark aerobiotischen Bacillus durch Sauerstoffentziehung schädigt. Die gährungsbeschleunigende Wirkung der von lebenden Bakterien befreiten Kulturen kann von den Stoffwechselpro-

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 20.

dukten des Bacillus oder einfach der Bouillon herrühren oder von der Kultur selbst veranlasst sein. Weitere Versuche werden darüber entscheiden.

d'Arsonval und **Charrin** (128) zeigen in dieser Hinsicht weiter, dass Bouillon an und für sich die Hefegährung hemme und nicht fördere, dass also die Produkte des Bacillus pyocyaneus die gährungsfördernde Wirkung äussern. Im Einverständniss mit der oben erwähnten Ansicht der Verf. steht, dass eine nach längerer Zeit doch in Gang gekommene Gährung von mit dem Bacillus zusammen kultivirter Hefe wieder zu unterdrücken ist durch Lüftung der Kultur.

Diese Versuche bezwecken die Untersuchung des Einflusses der pathogenen Bakterien auf Pflanzenzellen; letztere wurden benutzt, weil sie resistenter wie thierische Zellen sind und deshalb einen grösseren Wechsel der Versuchsbedingungen gestatten; Hefe wurde als ein einzelliger wohlbekannter Organismus gewählt, der seine Eigenschaften auch bei der dem höheren Thiere optimalen Temperatur von 37° bewahrt. Die Verf. wollen nun aber auch mit mehrzelligen höheren Pflanzen operiren.

d'Arsonval und **Charrin** (129) finden, dass Bacillus pyocyaneus, der durch Erwärmung so weit abgeschwächt war, dass die Kulturen nur noch grün fluoreszirten die Hefegährung nicht zu hindern im Stande war und Kaninchen nicht mehr tödtete.

d'Arsonval und **Charrin** (130) wollen die Bedingungen näher feststellen, unter denen der B. pyocyaneus auf die Hefegährung wirkt und sie studiren in dieser Richtung zunächst den Einfluss des Substrates (Agar, Gelatine, Bouillon, Serum, Milch, Kartoffel), auf dem B. pyocyaneus gezogen wurde. Sie erhielten nur mit Gelatinekulturen positive, konstante Resultate, andere Kulturen störten die Hefegährung nicht oder belebten sie sogar.

Wirkung des Lichtes auf Bakterien.

Buchner (139) giebt hier eine ausführlichere Darstellung der Untersuchung über die wir schon im Vorjahre berichtet haben[1]. Hinzuzufügen ist noch Einiges über Versuche bezüglich der Einwirkung des Lichtes auf Bakterien in grösseren Wassertiefen. Versuche mit Agarplatten im Starnberger See im September bei 15° R. Wassertemperatur und ganz klarem Wetter ausgeführt ergaben bei $4^1/_2$stündiger Exposition von Mittag an

Platte unter Wasserspiegel	Aussaat	Colonienentwickelung auf dem belichteten Theil der Platten
0,1 m	Cholera B.	keine
1,1 „	B. pyocyaneus	„
1,6 „	Typhus B.	„
2,6 „	B. pyocyaneus	mässig stark
3,1 „	Typhus B.	stark

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 76-77.

Da das Seewasser bei 2 m Tiefe schon deutlich trübe war, so kann man annehmen, dass das Licht bei 2 m Tiefe bei ziemlich klarem Wasser noch vollkommen kräftig auf die Bakterien wirkt.

Diese Erfahrungen über die Einwirkung des Lichtes auf die Bakterien liessen vermuthen, dass man im fliessenden Wasser Nachts mehr Bakterien finden würde. Es wurden in der Isar oberhalb München wirklich gefunden

Zeit der Entnahme	Colonien pro 1 ccm Wasser
$6^1/_4$ h Abends	160
$8^3/_4$ —	5
11 —	8
12 —	107
$1^3/_4$ Morgens	380
3 —	460
4 —	520
5 —	510
$6^1/_4$ —	250

so dass also von Mitternacht bis Sonnenaufgang sich die die Bakterienvermehrung begünstigende Wirkung der Dunkelheit erkennen lässt. Einige andere ähnliche Versuche sind im Original beschrieben. Vorläufige Versuche zeigten, dass elektrisches Bogenlicht auch in 8 Stunden in Agar suspendirte Keime tödtet. Die verschiedenen Theile des Spektrums wirken bei Verwendung von elektrischem Bogenlicht auf Typhusbakterien in der Weise, dass im Orange, Roth, Ultraroth und Ultraviolett die Entwicklung ungehemmt vor sich geht, während Grün, Blau und theilweise Violett das Wachsthum hemmen.

Gottstein (170) wurde von Liebreich darauf aufmerksam gemacht, dass man lebende Bakterien von durch Erhitzen getödteten durch ihr verschiedenes Verhalten gegen Wasserstoffsuperoxyd unterscheiden könne, da nur erstere daraus Sauerstoffbläschen entwickeln. Seit Schönbein die $H_2 O_2$ Spaltung durch Fermente entdeckt, ist gefunden worden, dass diese Eigenschaft alle lebenden Zellen ferner eine Reihe den Zellen entstammender, zu den Eiweisskörpern gehöriger Stoffe wie Fibrinogen, Fibrin und andere besitzen. Dass dies auf einen Gehalt der Zellen und ihrer Produkte an Enzymen zurückzuführen sei, hat begründeten Widerspruch gefunden. Einmal fehlt manchen Enzymen jene Spaltungskraft, anderen kann man sie nach Jacobson[1] ohne Schädigung der fermentativen Wirkung nehmen. Bergengruen fand andererseits dass die Zerlegung des $H_2 O_2$ eine allgemeine

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 245.

Eigenschaft lebenden Protoplasmas sei und dass wohl überhaupt nicht die Enzyme, sondern ihnen beigemengte Plasmareste jene Wirkung besässen.

Verf. untersuchte nun, welchem Bestandtheile der Zellen jene $H_2 O_2$ spaltende Wirkung zukommt. Er fand, dass diese Eigenschaft nicht an das Leben (definirt durch Wachsthum und Vermehrung) der Zelle gebunden ist. Die Fähigkeit des Plasmas $H_2 O_2$ zu spalten, wird durch Erhitzung auf 70^0 und durch Gegenwart mancher Körper wie Cyanwasserstoff, Chloralhydrat, Chloralcyanhydrin[1] und andere aufgehoben. Aber diese Körper sind keine Antiseptika und verhindern die $H_2 O_2$spaltung nur so lange wie sie in Contact mit den Zellen sind. Wirkliche Antiseptika, die die Fortpflanzung der Zellen aufheben, hemmen die $H_2 O_2$spaltung erst nach Wochen (z. B 1 $^0/_{00}$ Sublimat und Hefe).

Die Fähigkeit der Zelle $H_2 O_2$ zu spalten ist auf das in derselben vorhandene Nukleïn zurückzuführen. Wenn Hefe, die sich durch starke $H_2 O_2$-spaltung auszeichnet, mit salzsaurem Pepsin ausgezogen, mit Alkohol und Aether ausgewaschen, bei Zimmertemperatur getrocknet wird, so spaltet die resultirende, als reines Hefenuklein zu bezeichnende Substanz ebenso kräftig $H_2 O_2$ wie frische Hefe und behält diese Eigenschaft wochenlang in Pulverform wie in schwachen alkalischen Lösungen. In ersterer Form wirkt sie nicht durch Contact, denn sie verliert die Spaltungsfähigkeit durch Erhitzen. Den Vorgang der $H_2 O_2$ spaltung durch Nukleïn denkt sich Verf. rein chemisch, wobei es wohl zur Sauerstoffabspaltung aus beiden auf einander wirkenden Körpern kommt. Also nicht Enzyme sondern Nukleine bewirken in den Zellen die $H_2 O_2$spaltung. Auch Lilienfeld fand, dass aus Leukocyten dargestelltes Nukleïn $H_2 O_2$ spaltet.

Verf. fand im Anschluss an Bemerkungen von Schönbein über die Wirkung der Schimmelpilze auf $H_2 O_2$, dass Bacillus prodigiosus, B. coli, Tuberkelbacillus und verschiedene Wasserbakterien wie Schimmelpilze $H_2 O_2$ auch unter dem Mikroskop so energisch wie Hefe zersetzen. Auch die durch Eintrocknen oder Antiseptika getödteten Bakterien, wie die Colonien in jahrealten Rollröhrchen zersetzen $H_2 O_2$. Auch der Filterrückstand verdauter prodigiosus-Kulturen hat diese Eigenschaft, nur Erhitzung hebt sie auf. Diese Fähigkeit der Bakterien spricht dafür, dass sie grossentheils aus einer Substanz bestehen, welche den Nucleoalbuminaten der thierischen und pflanzlichen Zelle nahesteht. Dagegen sprach die Beobachtung von Nencki, der in Mykoprotein keinen Phosphor fand. Nun haben aber Lilienfeld und Monti (Ref. p. 74) gezeigt, dass auch die Bakterien die mikrochemische Phosphorreaktion der Verf. geben. Die Erfahrung von Lilienfeld und Posner, dass die Nukleinsäure mit basischen Anilinfarben, die alkalischen Protoplasmasubstanzen mit sauren Anilinfarben Verbindungen

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 248 unter Schaer.

eingehen trägt auch zur Entscheidung der Frage nach der chemischen Constitution des Bakterienleibes bei.

Verf. kam nun auf den Gedanken die Sauerstoffausscheidung aus $H_2 O_2$ als Reaktion auf die Anwesenheit lebender Bakterien zu benutzen und fand, dass man bei festen und flüssigen Speisen, an der Luft gestandenem Harn die Gegenwart von Bakterien durch Gasblasenbildung in Wasserstoffsuperoxyd nachweisen kann sofern nur z. B. durch Kochen dafür gesorgt ist, dass das Präparat sonst keine lebenden Zellen enthält.

Eine in $H_2 O_2$ getauchte, mit nicht verflüssigenden Colonien besetzte Gelatineplatte giebt ein sehr zierliches Bild wegen der von jeder Colonie ausgehenden Gasblasenentwickelung.

Auch für Trinkwasseruntersuchung speziell Controlle von Filteranlagen empfiehlt Verf. dies Verfahren, da Wasser in ausgeglühten und abgekühlten Reagensgläschen bei Gegenwart von mehr als 1000 Keimen im cc eine nach Ablauf einer Viertelstunde deutlich sichtbare Gasbläschenbildung am oberen Rande der Flüssigkeit erkennen lässt. Die Menge des abgespaltenen Sauerstoffs ist der der vorhandenen Bakterien direkt proportional. Da unfiltrirtes Flusswasser 10000 Keime und mehr enthält, filtrirtes 50-100 nur enthalten soll, so kann mit $H_2 O_2$ auch der bakteriologisch ungeschulte Ingenieur eine Controlle der Filter ausüben[1].

Richardson (196) knüpft an die Vermuthung von Downes und Blunt an, wonach die sterilisirende Wirkung des Lichtes auf Oxydation beruht, da sie bei Abwesenheit von Sauerstoff ausbleibt; während aber die genannten Verf. vergeblich nach einem oxydirenden Agens in der Flüssigkeit suchten gelang es Verf. die Bildung von Wasserstoffsuperoxyd in der Flüssigkeit nachzuweisen. Er verfolgt nun weiter zunächst an dem dazu sehr geeigneten Harn die Bedingungen dieses Prozesses und untersucht inwieweit die Lichtsterilisation der Flüssigkeit von dieser Wasserstoffsuperoxydbildung abhinge.

Er bestimmt colorimetrisch mit Hülfe von Titansäure die Menge des Wasserstoffsuperoxyds zieht zum Vergleich andere Reaktionen auf diesen Körper heran und überzeugt sich von der Abwesenheit von Nitriten. Der Urin wurde in flachen, 1 cm tiefen Schichten dem Sonnenlicht ausgesetzt und die Lichtwirkung durch dahinter gesetzte Spiegel verstärkt. Schon nach wenig Tagen war dann Wasserstoffsuperoxyd nachweisbar und keine Organismen und keine Zersetzung im Urin zu beobachten, während der dunkel oder hinter rothem Glas aufbewahrte Urin sich zersetzt hatte. Andererseits enthielt Urin, der im Sonnenlicht Wasserstoffsuperoxyd zeigte, diesen Körper nicht mehr, nachdem trübes Wetter eingetreten war und Pilze sich in dem Harn entwickelt hatten; nach Verf. haben die Organismen

[1]) Vgl. oben p. 31 und ff.

das Wasserstoffsuperoxyd zersetzt. In durch Kochen sterilisirtem Harn bildete sich unter Watteverschluss wohl im Licht aber nicht im Dunkeln Wasserstoffsuperoxyd und im ersteren Falle verschwand es, nachdem der Harn inficirt worden war. Die Bildung von $H_2 O_2$ hängt also nicht von der Oxydation lebender Organismen ab. In Rücksicht auf die Ammoniakbildung im Harn durch Bakterien wurde untersucht welchen Einfluss Gegenwart von NH_3 auf die $H_2 O_2$-bildung im Lichte hat und gefunden, dass letztere auf diese Weise nicht gestört wird. Dass ammoniakalischer Harn auch im Dunkeln etwas $H_2 O_2$ bildet und solcher Harn nach langer Aufbewahrung im Lichte kein $H_2 O_2$ enthält, soll weiter untersucht werden. In mit Schwefel-, Salz- oder Salpetersäure versetztem Harn wurde kein $H_2 O_2$ gefunden; reine Harnstofflösungen bilden im Lichte gar kein und solche von Harnsäure oder harnsauren Alkalien nur Spuren von $H_2 O_2$.

Ward (Ref. p. 122) meint, dass die sterilisirende Wirkung des Lichtes auf eine direkte Oxydation des Reserveöles in den Sporen zurückzuführen sei. Verf. glaubt aber, dass die Gegenwart eines so kräftigen Körpers wie $H_2 O_2$ jedenfalls ein nicht zu vernachlässigendes Moment sei. Er zeigt nun zunächst, dass Bakterienentwicklung in frischem Harn durch künstlichen Zusatz von $H_2 O_2$ aufgehalten wird, dass nicht überschüssig zugesetztes $H_2 O_2$ in zersetztem Harn zerstört wird, dass es aber, wenn es im Ueberschuss zugefügt wird, selbst zersetzten Harn sterilisirt. In heiss sterilisirtem Urin wird dagegen $H_2 O_2$ fast gar nicht zersetzt. Weiter wurde $H_2 O_2$ theils mit den abfiltrirten und gewaschenen, also von den Zersetzungsprodukten befreiten Organismen des Harns, andererseits mit den durch Aufkochen und Filtriren keimfrei gemachten Zersetzungsprodukten des Harns in Berührung gebracht und gefunden dass $H_2 O_2$ am wenigsten beständig ist in Berührung mit den thätigen Keimen und ihren Produkten, dass es weiter beständiger ist in Berührung mit den keimfreien Produkten, als in Gegenwart der gewaschenen Keime.

Zum Vergleich wurde nun auch die sterilisirende Wirkung des dem Lichte ausgesetzt gewesenen Harnes herangezogen; es zeigte sich, dass heiss sterilisirter und dem Lichte ausgesetzter Harn auf Zusatz einer kleinen Menge zersetzten Harnes die in diesem enthaltenen Keime tödtet, dass dies aber nicht mehr der Fall ist, wenn in dem erstgenannten Harne das $H_2 O_2$ durch sterilisirtes Mangansuperoxyd entfernt wurde.

Da auch schon in Zersetzung begriffener Urin durch Lichtwirkung sterilisirt wird, fragt es sich ob dies auf dem Einfluss des von den Organismen weiter zersetzten $H_2 O_2$ beruht oder ob hier eine andere Ursache mitwirkt. Verf. findet, dass die $H_2 O_2$-bildung unterbleibt, wenn die Harnzersetzungsprodukte sich zu sehr anhäufen, wie durch Zusatz steigender Mengen von durch Hitze und Filtriren sterilisirtem Harn zu frischem Harn und dadurch gezeigt wird, dass stark zersetzter Harn heiss sterilisirt im Lichte

kein H_2O_2 mehr bildet. Keimfreie Harnzersetzungsprodukte, die mit Keimen oder keimhaltigem Urin versetzt waren, wurden durch Licht sterilisirt und Verf. glaubt, dass auch in diesem Falle der Sauerstoff in Form von H_2O_2 oder ähnlichen Verbindungen auf die Organismen wirkt.

Durch Versuche mit verdünntem Harn fand Verf. dass die Menge des im Lichte gebildeten H_2O_2 mit der Concentration proportional steigt. Es erklärt dies die Beobachtung von Downes und Blunt, dass das Erscheinen von Bakterien im belichteten Harn im geraden Verhältniss zur Verdünnung steht. Diese Bemerkungen haben praktische Bedeutung hinsichtlich der Sterilisation der Abwässer im Lichte.

Die Resultate seiner Arbeit fasst Verf. wie folgt zusammen:

1. Wasserstoffsuperoxyd wird gebildet wenn Urin dem Lichte bei Sauerstoffzutritt ausgesetzt wird.
2. Das H_2O_2 ist in sterilisirtem Urin beständig, wird aber von den Organismen im Urin schnell zersetzt.
3. Wenn auch H_2O_2 im zersetzten und dann belichteten Harn nicht aufgefunden werden kann, so ist es doch gebildet und dann von den Organismen wieder zerstört worden.
4. Die Organismen werden bei der Zersetzung des H_2O_2 selbst getödtet.
5. Frischer belichteter Harn wirkt antiseptisch.
6. Dies hängt von der Gegenwart des während der Belichtung gebildeten H_2O_2 ab.
7. Die Sterilisation des Harns im Lichte beruht zum grossen Theile wenn nicht ganz auf der Wirkung des H_2O_2 auf die Organismen.

University College, Bristol.

Ward (217) beschreibt hier ausführlicher seine Versuche über die bakterientödtende Wirkung des Lichtes, über die schon im vorigen Bande dieses Berichtes (p. 77) kurz referirt wurde und als deren Resultat er fand, dass nur die blauen und violetten Strahlen tödtlich auf Milzbrandsporen wirken. Als farbige Schirme verwendete er theils Gläser, theils Lösungen von chromsaurem Kali oder Kupferoxydammoniak, hinter denen noch ein die Agarplatte theilweise bedeckender Schirm eingeschaltet wurde.

Um weiter zu entscheiden, ob das Licht direkt auf die Sporen oder auf das Nährsubstrat wirke belichtete er entweder in Schalen angetrocknete Sporen und goss dann unbelichteten Agar darauf oder er belichtete Agar und breitete dann eine Sporenaufschwemmung darüber oder er verfuhr — um einige bei diesem Verfahren möglicherweise wirksame Fehlerquellen zu vermeiden — so, dass er eine unbelichtete Agarschicht von der Glasplatte ablöste und auf eine belichtete Sporenschicht legte und umgekehrt. Stets zeigte sich dass das Licht direkt auf die Sporen wirkt und nicht auf das Substrat. Verf. glaubt, dass das Fett der Sporen durch das Licht oxydirt wird.

Einen organismentödtenden Einfluss des Lichtes bemerkte er auch bei Sporen von Oidium lactis, Chalara mycoderma, Saccharomyces pyriformis und Stysanus sp. während er solchen nicht konstatiren konnte bei Aspergillus glaucus, Penicillium crustaceum, Mucor racemosus, Nectria cinnabarina und Botrytis cinerea. Er bemerkt hierzu, dass alle auf die das Licht nicht wirkt mehr oder weniger dunkel gefärbt sind und glaubt, dass die Färbungen von anderen fettführenden Pilzsporen und Pollenkörnern ähnliche schützende Bedeutung habe.

Ward (218) untersuchte die Einwirkung verschiedener Spektralfarben auf Milzbrandbakterien und mehrere Wasserbakterien aus der Themse. Während aber die bisherigen Autoren nur einzelne Kulturröhrchen in verschiedenen Spektralbezirken exponirten, entwarf er ein Spektrum auf eine Agarplatte, die die betreffenden Bakterien enthielt. Im Sonnen- und elektrischen Spektrum zeigte sich eine bakterienschädigende Wirkung erst im Blau und Violett, nicht im übrigen Theile des Spektrums oder im Infraroth. Die Wirkung beginnt an der Grenze zwischen Grün und Blau, erreicht ihr Maximum am violetten Ende des Blau und nimmt im Violett und Ultraviolett ab. Bei Verwendung von elektrischem Licht zeigt sich, dass die bakterientödtende Wirkung weit ins Ultraviolette hineingeht und dass Glas eine beträchtliche Menge wirksamer Strahlen abschneidet und daher Quarzprismen etc. verwendet werden müssen.

Verschiedenes.

Boyce und **Evans** (138) fanden Bacterium Zopfii bei Otitis media einer Katze. Dieselbe Form beschrieb Crookshank unter dem Namen Bacterium figurans, welches er aus der Luft isolirte. Nach Vorgang dieses Autors bemerken die Verf., dass B. Zopfii in Gelatine charakteristisch gefiederte Colonien bildet, deren auf oder in der Gelatine befindliche Zweige einen Winkel von 45⁰ bilden. Die Verf. finden nun, dass in Gelatineröhrchen diese fiederförmigen Colonien desto weniger ausgebildet werden, je mehr die Stellung der Röhrchen der horizontalen sich nähert; dreht man die Röhrchen ganz um, so entsteht ein neues, etwas weniger ausgeprägtes, aber das alte durchkreuzendes System von Fiedern. Die Verf. vermuthen daher, dass die Schwerkraft dieses Wachsthum beeinflusst und finden dies dadurch bestätigt, dass die gefiederten Colonien nicht auftreten, wenn man die Kulturröhrchen einmal in der Minute in der Vertikalebene am Klinostaten dreht. Andererseits erhält man unter dem Einfluss der Centrifugalkraft gefiederte Colonien, wenn man die Röhrchen 4mal in der Sekunde dreht. Bacterium Zopfii ist also negativ geotropisch. Trotzdem wächst es selten orthotropisch wegen des Widerstandes der Gelatine. Die Fäden wachsen je tiefer sie in die Gelatine eingesenkt sind desto mehr horizontal.

Das fiederförmige Wachsthum tritt bei 21° am besten auf, bei niederer Temperatur ist es unregelmässiger, kleine Schwankungen in der Reaktion des Nährbodens haben keinen Einfluss, ebenso wenig wie Beleuchtung mit verschiedenen Spektralfarben; Kohlensäure hindert das symmetrische Wachsthum, Sauerstoff begünstigt es. Die gefiederten Colonien treten auf Kartoffeln und Agar nicht und in Gelatine nur von einer bestimmten Dicke derselben an auf; sie werden daher in Schalen schlecht, am besten immer in Röhrchen beobachtet.

Die Verf. bestätigen die Pleomorphie dieser Form auch hinsichtlich der Colonienbildung. Die Fäden oder Zoogloeen haben eine Neigung sich entgegengesetzt dem Sinne des Uhrzeigers zu drehen; vielleicht ist wie bei höheren Pflanzen auch hier die Schwerkraft im Spiele und möglicherweise ist Aehnliches bei den spiraligen in Flüssigkeit lebenden Bakterienformen der Fall. Bei den Kulturen des Bacterium Zopfii in Gelatine kommt vielleicht auch der Widerstand der Gelatine in Betracht.

Schenk (206) will gefunden haben, dass die Wärme in der Weise einen Reiz auf Bakterien ausübt, dass dieselben sich gegen einen im hängenden Tropfen befindlichen wärmeren Punkt lebhaft hinbewegen.

Wenn man in einen allerlei Bakterien enthaltenden Hängetropfen das spitze Ende eines Kupferdrahtes bis zur unteren Deckglasfläche einführt und den Draht erwärmt, so haben die Bakterien das Bestreben sich gegen den Drahtendpunkt hinzubewegen, ja demselben in auffallender Weise zuzuströmen. Dass hierbei eine „vitale Fähigkeit“ der Bakterien wesentlich betheiligt ist, folgert Verf. daraus, dass Tuschetheilchen im Hängetropfen bei gleicher Behandlung sich wohl lebhaft bewegen, aber nicht dem wärmeren Punkte zuströmen. Nicht zu Ketten vereinigte Bakterien wie B. prodigiosus, Staphylococcus pyogenes aureus zeigen die Erscheinung besser, wie z. B. der Wurzelbacillus. Gefärbte Dauerpräparate sind zu erhalten, wenn man die vorsichtige Erwärmung bis zum Eintrocknen des Tropfens fortsetzt.

Roth (197) findet, dass bewegliche Mikroorganismen z. B. in unter Deckglas gebrachtem Zahnschleim eine entschiedene Neigung zeigen in strömenden Flüssigkeiten gegen den Strom zu schwimmen. Er erklärt dies höchst sonderbar so, dass das Vorderende der beweglichen Organismen sich gelegentlich irgendwo festrennt, der Strom dann auf das freie Hinterende einwirkt und endlich so auch das Vorderende wieder frei macht, welches nun gegen den Strom gerichtet ist. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Burri (140) verlangt grössere Genauigkeit bei Bakterienbeschreibungen, um ein Wiedererkennen der Arten zu ermöglichen. Zunächst weist er auf die Bedeutung der Reaktion des Nährsubstrates für Keimgehaltsbestimmungen speziell Wasseruntersuchungen hin und wünscht eine mittlere Optimalzahl des Sodagehaltes der Nährgelatine festzustellen, die allen

Wasseruntersuchungen dann zu Grunde zu legen sei, da von der Reaktion die Zahl der gefundenen Keime abhängt.

Ein sehr inkonstantes Substrat sind auch Kartoffeln und Verf. will daher im Anschluss an Versuche von KRANHALS dieselben dadurch vergleichbarer machen, dass er sie mit Lösung wasserfreier Soda imprägnirt. Er bringt die Kartoffelstücke zu dem Zweck in der Lösung in den angeheizten Dampftopf und lässt sie $^1/_2$ Stunde darin stehen um sie nachher in kalter Sodalösung abkühlen zu lassen. Er empfiehlt bei Bakterienbeschreibungen besonders auf Kartoffelkulturen zu achten und nur solche als charakteristisch zu betrachten, die auf Kartoffeln von dem für die betreffende Art optimalen Alkali- oder Säuregehalt gewachsen sind. Ueberhaupt ist bei Bakterienbeschreibungen das Optimum des Alkali- oder Säurebedürfnisses festzustellen und danach die Kultur einzurichten. Der Verf. giebt auch zu bedenken, dass eine ganze Reihe von Bakterien auch ziemlich saure Substrate ertragen[1], manche sogar saures Nährmaterial verlangen.

Verf. kommt weiter auf die Form der auf Platten gewachsenen Colonien zu sprechen und betont, dass die meisten Keime beim Giessen der Platte in verschiedener Entfernung von der Oberfläche und damit vom Luftsauerstoff fixirt werden und erst später die Colonien an die Oberfläche durchwachsen. Dadurch zeigen die Colonien ein verschiedenes Aussehen. Um die Keime nun an der Oberfläche zu fixiren empfiehlt Verf. die Bakterien durch einen Zerstäuber auf die erstarrte Gelatine zu vertheilen. Wenn man dazu einen Apparat wählt, bei dem die capillare Flüssigkeitsaustrittsöffnung von der Luftaustrittsöffnung centrisch umfasst wird, so genügt es dem zerstäubten Strahl die Platte einige Sekunden gegenüberzuhalten. Die minimalen Flüssigkeitströpfchen auf der Gelatine verschwinden dann schnell, während wenn man nach DROSSBACH[2] die Bakterien in Wasser auf der festen Gelatine vertheilt, dass überschüssige Wasser durch eine Luftpumpe oder wasseranziehende Mittel zu langsam entfernt wird und bei Verwendung einer Luftpumpe die Gelatine Blasen ausserdem bekommt.

Hinsichtlich der Untersuchung von Bakterien auf Alkali- oder Säurebildung bemerkt Verf. dass Bakterien die in Glyceringelatine und -agar deutlich Säure producirten, in PETRUSCHKY's Lakmusmolke dies nicht thaten. Dass Säure- oder Alkalibildung in sehr hohem Masse von Wärme, Licht und kleinen Schwankungen in der Zusammensetzung des Nährsubstrates abhängen fand schon TATAROFF bei Versuchen mit Lakmusmolke, weshalb dieser einen Nutzen dieses Verfahrens nur bei gröberer Unterscheidung weniger Bakterienarten erwartet.

Dahmen (153) findet bei den „Vibrionen" von KOCH, FINKLER und

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 59 unter SCHLUETER.

[2]) Ebenda p. 16.

Prior, Metschnikoff und Deneke zwei Arten von Colonien stets vorkommen, die er mit α und β bezeichnet. Diese α-Colonien haben nun in relativ geringem Masse die Neigung unter sich zusammenzuwachsen, was sich durch Ausbuchtungen, die an den Annäherungsstellen der Colonien entstehen kund thut. Die β-Colonien zeigen die Neigung unter sich zusammenzuwachsen niemals. Dagegen haben die α-Colonien anscheinend in hohem Masse das Bestreben sich mit den β-Colonien zu vereinigen und nehmen infolgedessen die verschiedensten Formen an. Der Verf. beschreibt auch anschaulich, wie die β-Colonie sich vor der α-Colonie, die in sie hinein wachsen will, zurückzuziehen scheint. Dabei plattet sich zuerst die β-Colonie auf der der α-Kolonie zugekehrten Seite ab, buchtet sich hier dann sogar ein, so dass sie glockenförmig erscheint. Die verschiedenen Formen der α-Colonien werden durch den von ihnen ausgehenden nach einer bestimmten Richtung hin ziehenden Strom von Stoffwechselprodukten hervorgerufen, in welchen die Organismen hineingezogen werden. Die β-Colonien wachsen nach Aufnahme der Stoffwechselprodukte dieser α-Colonien ausserordentlich schnell und verflüssigen alsdann auch die Gelatine in entsprechendem Masse. Diejenigen β-Colonien, welche diese Stoffwechselprodukte aufgenommen haben, können dieselben oder neu produzirte an andere β-Colonien abgeben und auch diese zu beschleunigtem Wachsthum veranlassen. In den α-Colonien befinden sich hauptsächlich solche Vibrionen, die wieder α-Colonien hervorzubringen imstande sind; die Mikroorganismen der β-Colonien bringen wieder vorwiegend β-Colonien hervor. In den α- und β-Colonien entstehen aber spontan einzelne Vibrionen, die die jeweilig anders gearteten, also β- bezüglich α-Colonien hervorbringen.

Diese für den Verf. sehr auffallenden Erscheinungen kann er sich durch Annahme eines Ausgleichs chemischer Affinitäten, oder durch Diffusion, Dialyse oder Osmose nicht erklären. Er fühlt sich vielmehr berechtigt dieselben, da hier Organismen durch Aufnahme von Produkten anderer Individuen derselben Art neue Eigenschaften erlangen, durch Annahme einer Befruchtung (!!) zu erklären. Ein Blick auf die so mannigfaltigen geschlechtlichen Verhältnisse der niederen Algen sagt ihm „zur Genüge, dass diese allerdings vollkommen neue Befruchtungsart wohl möglich ist“.

Da der Verf. diese Mittheilung nur als eine vorläufige bezeichnet und annimmt, dass die hier mitgetheilten Thatsachen für jeden Bakteriologen von bedeutendem Interesse sind und deshalb auch von anderer Seite Bearbeitung erfahren werden, so würden also diejenigen unserer Leser, die mit Vergnügen diese wunderlichen Blüthen der Phantasie des Verf. betrachtet haben, sich einstweilen auf weitere Genüsse freuen können.

Lafar (183) vertheidigt seinen Bacillus butyri fluorescens[1] gegen

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 179.

die Behauptung von SCHENK (Grundriss der Bakteriologie), dass derselbe identisch sei mit dem in SCHENK's Laboratorium von WINKLER und VON SCHROETTER aus der Luft isolirten B. melochloros. Zu dem Zwecke stellt er die Unterscheidungsmerkmale wie folgt zusammen:

B. melochloros lebhaft beweglich. Colonien auf Gelatineplatten schon nach 4 Stunden mit blossem Auge bemerklich. Impfstiche in Gelatine zeigen uhrglasartige Einziehung. Striche auf Agar sind gelblich, der Agar selbst wird grünlich gefärbt.

B. butyri fluorescens ist unbeweglich, die Plattenkolonien sind erst nach 30 Stunden sichtbar, Impfstiche zeigen konische Trichter, Striche auf Agar sind weiss, der Agar bleibt ungefärbt.

Remy und **Sugg** (195) untersuchen vergleichend Typhusbacillen und B. coli verschiedener Provenienz sowie ähnliche, wie B. neapolitanus EMMERICH, B. lactis aërogenes, B. der Hog-Cholera, B. enteritidis GÄRTNER. Zunächst beschäftigen sie sich mit der Beweglichkeit und den Bewegungsorganen dieser Organismen. Die Verf. rechnen den Typhusbacillus mit jedenfalls der Mehrzahl der ähnlichen Formen in die Gruppe Peritricha, nach der Art der Geisseln so benannt; zu dieser gehören auch die meisten anderen beweglichen Bakterien. Form und Zahl der Geisseln des Typhusbacillus sind wenig veränderlich; die Cilien des B. coli sind weniger lang und weniger zahlreich, wie die des Typhusbacillus, was gut als Unterscheidungsmerkmal mit benutzt werden kann. Das vielfach als unbeweglich angesehene B. coli ist thatsächlich beweglich. Besonders in Bouillon mit Zusatz von Kaliumbichromat 1 : 6000 zeigt es lebhafte Zickzackbewegungen. Seine 4-6 Geisseln sind sehr fein und ziemlich kurz und färben sich sehr schwierig. Durch ungünstige Kulturbedingungen liessen sich die Formen der Geisseln des Typhusbacillus und des B. coli nicht verändern; interessant ist, dass B. coli bei Gegenwart geringer Mengen von Antisepticis sich lebhafter bewegen soll.

Zur Geisselfärbung liessen die Verf. LOEFFLER's Beize $^1/_4$-$^1/_2$ Stunde in der Kälte einwirken und benutzten eine Farblösung, die aus 20 ccm Anilinwasser und 5 ccm eines Gemisches von 2 Tropfen gesättigter alkoholischer Gentianaviolettlösung und 10 ccm destillirtem Wasser hergestellt war und die sie $^1/_2$ Stunde bei 37° wirken liessen. Auf diese Weise sollen die störenden Niederschläge vermieden werden.

Boersch (137) giebt an, dass Sarcina flava (DE BARY, Vorlesungen über Bakterien) das Schleimigwerden verschiedenster Flüssigkeiten bedingen kann. In sauren Medien wächst dieselbe nicht, schon kleine Mengen Weinsäure stören ihr Wachsthum. 1,9 Vol % Alkohol begünstigen ihr Wachsthum, schon 2,8 % hemmen aber die Entwickelung und bringen Involutionsformen hervor. Fumarsäure wird ausnahmsweise in saurer Lösung resorbirt, nicht aber Maleinsäure. Impfversuche in Most und Wein misslangen. (Zymotechn. Centralbl.)

Dubois (156) isolirte ein Leuchtbakterium von einem todten, spontan leuchtend gewordenen Kaninchen und kultivirte diese Form in einer Lösung von 1 g Asparagin, 1 g Glycerin, 0,1 g phosphorsaurem Kali, 3 g Kochsalz auf 100 Wasser. Die ein Jahr lang weiter kultivirten Bakterien leuchten jetzt viel schwieriger als früher. Hält man diese Kulturen im Dunklen, so bleiben sie durchsichtig und leuchten kräftig, während sie nach einigen Tagen im Lichte bei ungefähr 10 Grad undurchsichtig schön orangegelb werden und mit Ausnahme des Randes der Kulturen nicht mehr leuchten. Aus nicht leuchtenden Colonien besäete Kulturen nehmen nur nach und nach die früheren Eigenschaften wieder an. Die leuchtenden Individuen unterscheiden sich sonst von den nicht leuchtenden nur durch etwas grössere Länge.

Gadeau de Kerville (162) giebt in diesem Buche auch eine Zusammenstellung über leuchtende Bakterien aber sehr oberflächlich und unvollständig und sonderbarer Weise unter der Ueberschrift „Algen".

Charrin (145) diskutirt den Einfluss der Agentien der Atmosphäre auf Bakterien.

Gegen Lichtwirkung sind die Bakterien des Milzbrandes und Schweinerothlaufs sehr empfindlich, weniger die Staphylokokken, B. prodigiosus, Finkler-Prior'sche Bacillen; B. pyocyaneus erträgt Sonnenstrahlen 4 Stunden und länger, ohne die Pigmentbildung völlig einzubüssen. Letztere Fähigkeit ist sehr verschieden je nachdem die Kulturen hell oder dunkel, im direkten oder reflektirten Licht stehen. Mit grünen Flüssigkeiten umgebene Kulturen von B. pyocyaneus wuchsen üppiger, wie in violett und gelb gehaltene. In dunkler Umhüllung entwickelten sie sich besser. Im Licht gewesene Bakterien zeigen sich auf neuem Nährboden abgeschwächt, jedoch ist die Lichteinwirkung von der Qualität des Nährbodens abhängig und z. B. auf peptonarmen Substraten stärker, wie auf guten.

Weil der Sauerstoff für viele Bakterien unentbehrlich ist, sollen sich dieselben in höheren Luftschichten reichlicher finden. Das Zittern der Lufttheilchen hat auf B. megaterium, Proteus vulgaris u. a. erheblichen Einfluss, auf B. pyocyaneus nicht. Luftdruckverhältnisse und Elektrizität sollen auch von Einfluss sein.

Christiani (147) machte Luftuntersuchungen bei Gelegenheit einer in Genf am 11. September 1892 ausgeführten Ballonfahrt und fand die umstehend angegebenen Zahlen

In der gleichen Luftmenge fanden sich am Boden an ruhiger Stelle 3, an belebter Stelle 18 Colonien. Regen war am 10. und 11. September nicht gefallen, am 9. Sept. 2,8 mm. Der Wind war am 11. September Mittags NNE 2, Abends SE 0. Die Temperatur war Min. $5^0,5$ C, Max. $18^0,4$, um 5 Uhr 17^0, der Barometerstand 732 (Mittel 727).

Bei der Probenahme wurde der Apparat mit ausgestrecktem Arm

möglichst weit aus der Gondel herausgehalten; nur bei 1000 Meter wurde die Probe im Innern der Gondel genommen und deshalb bewirkte offenbar der von den Insassen aufgewirbelte Staub die grössere Bakterienzahl. Die ersten Proben zeigen offenbar deshalb so viel Colonien im Vergleich zu der auf der Erde genommenen Probe, weil von dem Ballon Staub herunterfiel; die Vorsicht die Luft in der Fahrtrichtung des Ballons zu entnehmen genügte nicht diesen Einfluss auszuschliessen.

Höhe in Meter über Meer	Höhe in Meter über Boden	Colonienzahl
550	160	33 (dabei 1 Schimmelpilz)
630	240	21 (1 Schimmel)
800	410	9 (1 Schimmel)
900	510	13
1000	610	49 (1 Schimmel)
1100	710	1
1350	960	0
1700	1310	0

Beim Versuch verwendete der Verf. Erlenmeyer'sche Kolben, an deren Boden sich Bouillon mit 20 % Gelatine befand; auf diese feste Schicht brachte Verf. die gleiche Menge Bouillon ohne Gelatine und leitete die gewünschte Luftmenge durch diese Bouillon. Wenn das Ganze dann in warmes Wasser getaucht wird, mischt sich die Bouillon mit der verflüssigten Gelatine und es entsteht eine Gelatineplatte mit 10 % Gelatine. So wird die bei Ballonfahrt unmögliche Anwendung einer Flamme vermieden.

Housson (178) schüttelte Erdproben in Wasser und brachte dies in Gelatine. Er fand an der Oberfläche 1 680 000 Keime im g Erde, bei 2 Fuss Tiefe 900 000, bei 4 Fuss 25 000, bei 6 Fuss 410. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Russell (204) untersuchte die Bakterien-Flora des atlantischen Oceans bei Woods Holl gerade so wie früher die des Golfes von Neapel[1]. Die erlangten Resultate weichen namentlich bezüglich Zahl der Individuen und Arten erheblich von den früheren ab. Es zeigte sich Folgendes:

1. Bakterien sind im Wasser des Oceans, sowohl auf hoher See wie in der Küstenregion überall vorhanden jedoch nicht so reichlich wie im Süsswasser.
2. Die Individuenzahl ist erheblich kleiner als bei Neapel. Im Schlamm des Meeres sind Bakterien in grosser Zahl vorhanden, die indessen nicht nach unten gesunken sondern wirklich Bewohner des Untergrundes sind.
3. Die Zahl der im Meere endemischen Formen ist gering. Die meisten derselben sind wohl über grössere Flächen verbreitet, vielleicht kosmo-

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 58.

politisch. Noch eigenthümlicher als ihre geographische Verbreitung ist diejenige in den verschiedenen Schichten des Wassers.

4. Pathogene Formen fehlten, dagegen besassen die meisten der gefundenen Bakterien die Fähigkeit Fermente zu bilden und Nitrate zu reduciren. Gegen Sonnenlicht waren sie sehr empfindlich.

An neuen Formen fand Verf. vier, die er näher beschreibt: Bacillus limicolus, pelagicus, litorosus und maritimus. (Bot. Centralbl.)

Siebel (207) empfiehlt zur bakteriologischen Untersuchung Luft durch steriles Wasser in einen Mitscherlich'schen Kugelapparat zu leiten; dieselbe soll dann die Feuchtigkeit und die Keime in einem abgekühlten Liebig'schen Rohr niederschlagen (?). (Centralbl. f. Bakteriol.)

V. Gährungen im Besonderen.

a) Alkoholgährung.

221. Bau, A., Ueber die Kohlehydrate des Bierextractes (Wochenschr. f. Brauerei 1893, p. 1). — (S. 135)

222. Bau, A., Ueber die Verwendung der Hefe zur quantitativen Bestimmung gährfähiger Substanzen (Chemikerzeitung 1893, No 23). — (S. 135)

223. Bau, A., Ueber die Bestimmung der Isomaltose (Chemikerzeitung 1893, No. 29). — (S. 134)

224. Berlese, A. N., Il Valore dei Fermenti selezionati nella vinificazione (Estr. dal Giornale di Viticoltura, Enologia ed Agraria Anno I, 1893, no. 4).

225. Bornträger, H., Ueber eine rationelle Entfuselung (Deutsche Chemikerzeitung Bd. VII, p. 377). — (S. 136)

226. Brown, H. T., and G. Harris Morris, On certain functions of hops used in the dry-hopping of beers (Transactions of the Institute of Brewing vol. VI, 1893, no. 4). — (S. 137)

227. Cambier, Untersuchungen über die Vergährungen gelüfteter Würzen (Bull. assoc. chim. t. XI, 1893, p. 111). — (S. 137)

228. Cluss, A., Die Reinzuchthefe und die Anwendung der Antiseptika speziell der Fluorverbindungen in der Brennerei [Habilitationsschrift] Halle-Wittenberg 1893. — (S. 167)

229. Delbrück, M., Grundlagen für ein Preisausschreiben zur Lösung der Schaumgährungsfrage (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1892, No. 51; 1893, No. 2, 3, 4). — (S. 157)

230. Delbrück, M., Die Erfolge der Reinhefe in der Praxis und die Bekämpfung der Schaumgährung (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1893, Ergänzungsheft, p. 25). — (S. 155)

231. Delbrück, M., Ueber die physiologische Methode der Eiweissbestimmung für Würze und Bier und ihre praktische Bedeutung (Wochenschr. f. Brauerei 1893, No. 30). — (S. 139)

232. Delbrück, M., Durch welche Mittel kann man die Gährzeit im Gährkeller abkürzen? Wie bewährt sich die warme Gährführung? (Wochenschr. f. Brauerei 1893, No. 29). — (S. 140)

233. **Dömens, A.,** Keimgehalt ausschankreifer Flaschenbiere (Allgem. Brauer- und Hopfenzeitung 1892, No. 122, p. 2037). — (S. 140)

234. **Duclaux, E.,** Sur le vieillissement des vins (Annales de l'Inst. Pasteur t. VII, 1893, p. 537). — (S. 141)

235. **Effront, J.,** Sur certaines conditions chimiques de l'action des levures de bière (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, p. 559).—(S.164)

236. **Effront, J.,** Ueber die Anwendung der Fluorverbindungen in den Gährungsgewerben (Moniteur scientifique du Dr. Quesneville (4) t. VII, 1893, p. 182; Zeitschrift f. Spiritusindustrie 1893, No. 14). — (S. 166)

237. **Elion, H.,** Studien über Hefe (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIV, 1893, p. 53). — (S. 142)

238. **Elion, H.,** Neues Verfahren zur Reinigung der Hefe (Wochenschr. f. Brauerei 1893, p. 81). — (S. 142)

239. **Gährtemperatur,** Einfluss derselben auf die Hefethätigkeit (Böhmischer Bierbrauer 1893, p. 57). — (S. 146)

240. **Gosio,** Sulla conservazione della Birra per mezzo dell'acido carbonico [Laborat. scient. della Direzione di Sanità] (Rivista d'Igiene e Sanità pubbl. 1893, vol. IV, p. 61). — (S. 173)

241. **Greg, P. H.,** Fermentation in Rum Distilleries (The Sugar Cane vol. XXV, 1893, p. 588). — (S. 164)

242. **Hansen, E. Chr.,** Ueber Krankheiten im Biere, die durch Alkoholgährungspilze hervorgerufen werden. Hefetrübung im Biere hervorgerufen durch Saccharomyces ellipsoideus II und S. Pastorianus III. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen Bd. XVI, 1893, p. 21) [Vgl. Koch's Jahresbericht Bd. III, 1892, p. 136].

243. **Jacquemin, G.,** Etude des perfectionnements apportés dans la culture et l'emploi des levures destinées à la production des boissons alcooliques. 8°. 91 p. et planches. Nancy 1893, Imprim. nancéienne.

244. **Jégou,** Beiträge zur Kenntniss mannithaltiger Weine und Bestimmung des Mannits (Journal de Pharm. et de Chim. (5) t. XXVIII, p. 103). — (S. 152)

245. **Jörgensen, Alfred, et J. Chr. Holm,** Le procédé de M. Effront pour la purification et la conservation de la levure à l'aide de l'acide fluorhydrique et des fluorures (Moniteur scientifique du Dr. Quesneville (4) t. VII, 1893. Mars). — Ueber das Effront'sche Verfahren zur Reinigung beziehungsweise Conservirung der Hefe vermittelst Flusssäure oder Fluoriden (Chemikerzeitung 1893, No. 23). — (S. 165)

246. **Jörgensen, Alfred, und J. Chr. Holm,** Antwort auf Effront's Bemerkungen rücksichtlich unserer Untersuchungen über die Einwirkung der Flusssäure auf die verschiedenen in der Gährungs-

industrie auftretenden Mikroorganismen (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1893, No. 19). — (S. 167)

247. **Jörgensen, Alfred,** Die Anwendung von Hansen's System in Obergährungsbrauereien (Zeitschr. f. d. g. Brauwesen Bd. XVI, p. 299). — (S. 163)

248. **Krieger,** Zur Systematik der Sprosspilze (Der amerikanische Bierbrauer Bd. XXVI, 1893, No. 4). — (S. 146)

249. **Laer, H. van,** Beiträge zur Geschichte der Kohlenhydratfermente (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen Bd. XV, 1892, p. 340) [Vgl. Koch's Jahresbericht Bd. III, 1892, p. 162].

250. **Laer, H. van,** La question des rapports de l'oxygène avec la levure. Note préliminaire. Revue critique des travaux parus (Bull. de l'assoc. belge des chimistes t. VII, 1893, no. 3). — (S. 137)

251. **Laer, H. van,** Changement à la methode de Hansen pour la production de cultures pures de levures [Contribution au congrès intern. de brasserie à Chicago] (Americ. Brewer's Review. vol. VII, no. 6). — (S. 162)

252. **Lasché, A.,** Einfluss verschiedener Wärmegrade auf gewisse Hefearten, sowie deren Verhalten in säurehaltigen und alkalischen Nährsubstanzen (American Brewer's Review t. VI, p. 237). — (S. 174)

253. **Lefèbvre,** Ursachen der Verluste bei der Vergährung von Zuckerlösungen (Bull. assoc. chim. t. X, 1892, p. 355). — (S. 148)

254. **Lévy, Lucien,** De la fermentation alcoolique des topinambours sous l'influence des levures pures (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVI, 1893, p. 1381). — (S. 163)

255. **Lindet, L.,** Influence de l'acidité des moûts sur la composition des flegmes (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, p. 122). — (S. 148)

256. **Lindner, P.,** Wie sterilisirt man am besten die Leitungen, Bottiche und Schläuche und wie kann man den eventuellen Erfolg hierauf bezüglicher Massnahmen schnell feststellen (Wochenschr. f. Brauerei 1893, No. 29). — (S. 174)

257. **Martinand, V.,** Etude sur la fermentation alcoolique du vin. Paris 1893, Librairie polytechnique Baudry & Cie. — (S. 149)

258. **Nathan, E.,** Fortschritte auf dem Gebiete der Fruchtwein-Bereitung [Vortrag gehalten auf dem deutschen Pomologenkongress in Breslau am 28. September]. Stuttgart 1893, Vereins-Buchdruckerei. — (S. 160)

259. **Ravizza, F.,** Ueber die Wirkung des doppeltschwefligsauren Kalkes und des Kaliumpyrosulfits auf die alkoholische Gährung (Stazione sperim. agrar. ital. t. XXIV, 1893, p. 593). — (S. 175)

260. **Reichard, A.,** Ueber Blasengährung (Zeitschr. f. d. gesammte Brauwesen Bd. XV, 1892, p. 381).

261. **Reinke, O.,** Ueber Veränderungen der in südlichen Klimaten geführten Hefen (Wochenschr. f. Brauerei 1893, No. 38). — (S. 149)
262. **de Rey-Pailhade, J.,** Action de l'alcool et du soufre sur la levure de bière (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 46). — (S. 149)
263. **Roeser,** De la formation d'aldéhyde dans la fermentation alcoolique (Annales de l'Inst. Pasteur t. VII, 1893, p. 41). — (S. 150)
264. **Roos, L.,** Die Mannitgährung der Weine (Journal de pharm. et de chim. (5) t. XXVII, p. 405). — (S. 152)
265. **Seifert,** Ueber Verbesserung fuchsiger Weine (Allg. Weinzeitung Bd. IX, p. 423). — (S. 163)
266. **Stellwaag, A.,** Anleitung zur Hefereinzucht. 39 p. m. Fig. Freising 1893, Datterer. — (S. 162)
267. **O'Sullivan, J.,** Ueber die Einwirkung der Hefe auf Rohrzucker (Transactions of the Institute of Brewing vol. VI, p. 67). — (S. 152)
268. **Tanret, Ch.,** Sur les hydrates de carbone du topinambour (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, 1893, p. 50). — (S. 155)
269. **Tolomei, G.,** Sopra l'azione della pressione sul fermento elittico (Rendiconti d. Accad. dei Lincei 1893, vol. II p. 582).
270. **Villon, M.,** Les vins obtenus par fermentation basse (Bull. de la société chimique de Paris (3) t. IX, 1893, p. 605). — (S. 155)
271. **Will, H.,** Die Krankheiten des Bieres (Zeitsch. f. d. ges. Brauwesen Bd. XVI, p. 333) [Zusammenfassende Darstellung].
272. **Will, H.,** Notiz betreffend den Nachweis von wilden Hefearten in Brauereihefen und Jungbieren sowie das Vorkommen von Saccharomyces apiculatus in denselben (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen Bd. XVI, p. 29). — (S. 170)
273. **Will, H.,** Ueber die Wirkung einiger Desinfektionsmittel auf Hefe (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen Bd. XVI, 1893). — (S. 171)
274. **Wortmann, J.,** Ueber die Anwendung von reingezüchteten Hefen bei der Schaumweinbereitung (Mittheilungen über Weinbau u. Kellerwirthschaft 1893, No. 6). — (S. 159)

Allgemeines.

Bau (223) hat im vorigen Jahre ausgesprochen[1], dass gewöhnliche Betriebshefe und Saazer Hefe in Bierwürze verschiedenen Endvergährungsgrad erreichen und dass dies auf die Isomaltose zurückzuführen sei, welche von der Saazer Hefe nicht vergohren werde. Da Delbrück[2] dieser Anschauung widersprach, hat Verf. derartige Versuche wiederholt und die Osazonmengen quantitativ bestimmt. Er fand durch den Gährversuch,

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 127.
[2]) Ebenda p. 128.

dass die verwendete Würze 1,1 % eines von Saazer Hefe nicht, wohl aber von Betriebshefereinkultur vergährbaren Körpers enthielt. Als Osazon fand er 42,2 % der angegebenen Isomaltosemenge, glaubt aber dass die wirkliche Menge noch bedeutend grösser ist und bleibt daher bei seiner oben erwähnten Ansicht. Einen anderen Körper, der nicht durch Saazer, wohl aber durch Betriebshefe vergohren wird, fand er in der Würze nicht.

Bau (221) untersuchte um eine quantitative Bestimmungsmethode für Isomaltose zu finden wie REINKE[1] ausgegohrene Biere, die mit Saazer und Betriebshefenreinkultur vergohren waren. Aus dieser Arbeit ist hier noch zu erwähnen, dass die Saazer Hefe Isomaltose im Biere nicht vergähren kann, Maltose enthält das Saazer Bier nicht mehr. Im Bier der Betriebshefe ist weder Maltose noch Isomaltose vorhanden; der Unterschied im Endvergährungsgrad zwischen diesem und dem Saazer Bier beruht auf der Anwesenheit der Isomaltose. Darauf gründet sich das vom Verf. im vorigen Jahre vorgeschlagene Verfahren[2] zur quantitativen Bestimmung der Maltose. Ein Körper, der etwas anderes ist als Isomaltose und von Saazer Hefe nicht, wohl aber durch Betriebshefe vergohren wird, konnte in Form eines Osazons nicht im Biere gefunden werden (Vgl. dagegen REINKE[1]). Zum Vorkommen der Raffinose und Melibiose im Biere bemerkt Verf., dass Raffinose nur durch sehr kräftige Hefe vergohren werde; schwache Hefe spalte sie zwar, doch bleibe dann Melibiose unvergohren. Es war wahrscheinlich, dass Saazer Hefe wie schwache Hefe wirke, Verf. fand aber in dem mit Saazer Hefe hergestellten Bier keine Melibiose und bezweifelte überhaupt das Vorkommen der Melibiose bezw. Raffinose in den ihm zur Verfügung stehenden Würzen.

Nebenbei bemerkt er, dass im konsumreifen und eingedampften Bier Betriebshefe nicht gährt aber sich vermehrt; ein starker weisser Ring setzte sich am oberen Rande des Bieres besonders auf der Lichtseite nach vierteljährlicher Beobachtungsdauer ab. Auch bei Abwesenheit von Zucker vermehrt sich nach Verf. die Hefe auf Kosten von Dextrin. Saccharomyces ellipsoideus II HANSEN wächst in ausgegohrenem Bier viel schneller als Kulturhefen. Die Hautbildung letzterer auf Bier dürfte mit der Abwesenheit von Zucker in Beziehung stehen.

Bau (222) hebt hervor, dass die rein chemischen Methoden zur Untersuchung eines Gemisches von Zuckerarten nicht ausreichen und deshalb die Verwendung verschiedener Hefen zu diesem Zweck Eingang gefunden hat[3]. Dabei sind nun einige Vorsichtsmassregeln zu beachten, speziell muss

---

1) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 129.
2) Ebenda p. 127.
3) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 139; III, 1892, p. 120 u. 127.

die Gährung in der Flüssigkeit unter dem Einfluss der angewandten Hefe völlig abgelaufen sein. Der Verf. zeigt nun woran dies speziell bei Bierwürzen zu erkennen ist:

1) Das Bier muss sich völlig geklärt haben. Selten wird in Folge von Harztrübung das Bier in höherer Temperatur nicht ganz blank.
2) Jede äussere Gährungserscheinung muss erloschen sein.
3) Das Gewicht der Gährflasche oder des Kölbchens darf sich in 24 Stunden nicht mehr verändern; Wägungen sind bis auf 0,02-0,03 g auszuführen.
4) Beim Umschwenken des Bieres darf sich kein feiner weisser Schaum bilden.
5) Sind diese Bedingungen erfüllt, so wird die Gährflasche 24 Stunden bei 10-15° C aufbewahrt. Nach dem Auffüllen mit destillirtem Wasser auf das ursprüngliche Gewicht wird die Mündung der Flasche mit dem Finger verschlossen und tüchtig geschüttelt. Ist beim Oeffnen noch innerer Druck wahrnehmbar, so deutet dies auf unvollendete Gährung.
6) Bei Anwendung von S. cerevisiae ist das Bier völlig vergohren, wenn die Hefe Hautbildung zeigt oder an der Stelle, wo die Flüssigkeit die Glaswand berührt ein Hefering entsteht. Dies ist aber nicht zu verwechseln mit dem bei Verwendung obergähriger Hefen eintretenden Hefetrieb. Da jene Haut- und Ringbildung spät eintritt, dürfte sie bei analytischen Arbeiten nicht in Frage kommen.
7) Zur Sicherheit muss ein Theil des Bieres, wenn nach den angeführten Merkmalen die Gährung vollendet ist, sterilisirt, eventuell mit Nährsalzen und Pepton versetzt und wieder mit derselben Hefe geimpft werden. Erst wenn jetzt in drei Tagen bei 25° C keine weitere Gährung sich zeigt, ist anzunehmen, dass das Bier völlig vergohren war.

Bedingung No. 6 und 7 sind gleichwertig, erstere erfordert aber längere Zeit.

Controlversuche sind bei solchen Analysen mittelst Hefe dringend zu empfehlen.

Bornträger (225) findet, dass das Fuseloel seine Entstehung bei der alkoholischen Gährung den Fetten verdankt, die besonders in den Schalen der verwendeten Früchte ihren Sitz haben. Entschälter Reis eingemaischt und gebrannt gab ein Destillat, welches sich nur schwach mit H_2SO_4 färbte, ebenso mit Benzin entfettetes Korn. Verf. schlägt daher vor, das Material der Spiritusfabrikation vorher mit einem geruchlosen Mittel wie Methylal zu entfetten. Das hierbei als Nebenprodukt gewonnene halbflüssige Fett ähnelt den tropischen Pflanzenfetten und dürfte sich zur Seifenfabrikation eignen. Der so gewonnene Rohsprit hat nur sehr wenig Vor- und Nachlauf und braucht daher nicht weitläufig gereinigt zu werden. Nicht eignen dürfte

sich das Verfahren für Kartoffeln wegen des hohen Wassergehaltes, auch nicht für Reis, da sonst die Entstehung des für das Arakbouquet so wichtigen Propyl- und Butylalkohols unmöglich gemacht würde. Hier müssten dann die älteren Entfuselungsverfahren eintreten. (Chem. Centralbl.)

van Laer (250) giebt hier als Grundlage eigener noch nicht veröffentlichter Untersuchungen, auf die wir im nächsten Jahre zurückzukommen haben werden eine kritische Uebersicht über die Arbeiten, die sich mit dem Einfluss des Sauerstoffs auf die Zersetzung von Dextrose, Rohrzucker und Kohlehydraten der Bierwürze durch gährungstechnisch wichtige Hefen beziehen.

Er findet dass Folgendes feststeht:

1) Für Gährung bei gleichzeitiger Sprossung:

Wenn Hefe in Zuckerlösung sprosst, so ist ihre Gährkraft d. h. das Verhältniss des zersetzten Zuckers zur gebildeten Hefe desto grösser je vollkommner der Sauerstoff abgeschlossen bleibt. Die Intensität der Zuckerzersetzung in einer gegebenen Zeit (Gährungsenergie) ist grösser, wenn der Hefe reichlich Sauerstoff zur Verfügung steht. Die bei Luftzutritt gebildete Hefe hat eine grössere Gährungsenergie, wie wenn sie bei Luftabschluss entsteht. Aus dem Gesagten folgt, dass in gelüfteter, gährender Zuckerlösung die Gährung schneller und vollständiger verläuft und im Allgemeinen mehr Hefe gebildet wird.

2) Für Gährung ohne Sprossung:

Eine Hefe, die verhindert wird zu sprossen, zeigt höhere Gährkraft und Gährungsenergie, wenn während der Gährung gelüftet wird.

Dagegen sind nach Verf. folgende Fragen neu zu untersuchen:

Ist bei Gährung mit gleichzeitiger Sprossung die Alkoholbildung mit der Zellbildung verknüpft oder ist sie das Werk der sich nicht mehr vermehrenden Zellen?

Wird bei Gährung mit oder ohne Sprossung Alkohol gebildet, wenn alle Zellen unter dem Einfluss des Sauerstoffs stehen?

Wie verhalten sich bei Lüftung die unter normalen Verhältnissen die höchste Hefeernte gebenden Heferassen. Welche Ursachen begrenzen die Hefeneubildung in Zuckerlösungen und Würze?

Können gewisse Heferassen bei Luftzutritt gleichzeitig mehr Hefe und mehr Alkohol als unter gewöhnlichen Verhältnissen geben?

Cambier (227) bestätigt, dass durch Lüftung der Würzen vor und während der Gährung bessere Ausbeuten an Alkohol und reinere Produkte erzielt werden. Letzteres erkläre sich jedenfalls durch die Einwirkung der Luft auf fremde anaerobiotische Gährungserreger. (Chemikerztg.)

Brown und **Morris** (226) untersuchen näher die bei der Herstellung gewisser englischer Biere geübte Gewohnheit dem Biere nach der Haupt-

gährung im Fasse eine kleine Menge trocknen Hopfens zuzusetzen. Dadurch wird erstens dem Biere ein bestimmtes Aroma ertheilt, zweitens wirkt der Hopfen antiseptisch auf das Bier und das leer werdende Fass, drittens klärt das Bier bei Hopfenzusatz schneller und viertens tritt die Nachgährung schneller ein und hält länger an.

Diese Wirkung des Hopfenzusatzes kann nach den Verf. drei Ursachen haben. Entweder enthält der Hopfen vergährbaren Zucker oder es sitzen auf ihm wilde Hefen, die schnellere Nachgährung verursachen als die gewöhnlichen Hefen oder der Hopfen enthält eine Diastase, die die Amyloine und Dextrine des Bieres in vergährbaren Zucker überführt und so der Hefe Material zur Nachgährung liefert.

Was die erstere Erklärung anbelangt, enthält der untersuchte Hopfen 1,55 $^0/_0$ Dextrose und 2,1 $^0/_0$ Lävulose, aber die Menge dieses Zuckers ist, da nur $^1/_2$-$^3/_4$ Pfund Hopfen per Barrel zugesetzt werden, zu gering um die erwähnten Eigenschaften des Bieres zu veranlassen. Zweitens sind wilde Hefen auf dem Hopfen zwar vorhanden, aber dieselben entwickeln sich im Biere erst viel später, wenn in diesem die erwähnten günstigen Veränderungen nach dem Hopfenzusatz schon eingetreten sind. Die Verf. gingen dann dazu über den Hopfen auf Diastase zu prüfen. Wässeriger Hopfenextrakt zeigte aber keine Spur von diastatischer Wirkung auf lösliche Stärke. Dagegen entstand aus löslicher Stärke Maltose, wenn sie in Berührung mit Hopfen unter Zusatz von Chloroform behufs Ausschluss von Bakterienwirkung gehalten wurde während die Umwandlung der Stärke ausblieb wenn die mit Hopfen versetzte Stärkelösung aufgekocht wurde. Noch schneller werden die im Bier vorkommenden oder aus Stärke mit Säure dargestellten Amyloine bei Gegenwart von Hopfen verzuckert. So entstanden bei Zusatz von 5 g Hopfen auf 250 cc Amyloinlösung bei 30^0 unter Chloroformbeigabe in 3 Tagen per 100 cc Flüssigkeit 0,363, in 11 Tagen 1,493 und in 27 Tagen 2,539 g Maltose.

Danach zweifeln die Verf. nicht, dass der günstige Einfluss des Hopfenzusatzes zu Bier nach der Hauptgährung auf diesen Diastasegehalt zurückzuführen ist. Wie beträchtlich diese Diastasewirkung ist, geht daraus hervor, dass eine Hopfensorte in 48 Stunden aus löslicher Stärke 72 und aus Amyloinen 91 $^0/_0$ ihres Eigengewichtes an vergährbarem Zucker producirte. In Bier entstanden in 7 Tagen 68,7 $^0/_0$ des Hopfengewichtes an Maltose berechnet aus dem Reduktionsvermögen, wobei die in der Praxis ungefähr angewendete Menge von 1 g Hopfen auf 360 cc Bier zugesetzt und das Gemisch bei 28-30^0 gehalten wurde. Solche Zuckermengen erklären zur Genüge das kräftige und schnelle Einsetzen der Nachgährung bei Zusatz von Hopfen. Die Verf. fanden weiter, dass aus löslicher Stärke 10 g Hopfenfruchtstände mit Samen 9,6 g Maltose, 10 g derselben ohne Samen 2,06 und die gleiche Gewichtsmenge Hopfenlaubblätter 2,01 g Maltose

bildeten. Die Samen enthalten also deutlich Diastase, die Brakteen und Blätter aber auch.

Es fragte sich nun, warum der wässerige Hopfenextrakt gar nicht diastatisch wirkt; wahrscheinlich enthält derselbe einen Körper, der die Diastase unlöslich macht und da bekannt ist dass Tannin in dieser Weise wirkt und im Hopfen reichlich enthalten ist, war es wahrscheinlich, dass Tannin an der in Rede stehenden Erscheinung Schuld ist. Versuche zeigten, dass Hopfenextrakt aus Malz viel weniger Diastase auszieht, wie Wasser; die diastatische Kraft beider Extrakte verhielt sich wie 16 : 100. Schüttelt man den Hopfenextrakt aber mit einigen Streifen ungegerbten Fells, so wird nur der Gerbstoff herausgenommen und der Extrakt zieht dann aus Malz Diastase kräftig aus. Unter den Verhältnissen der Praxis bildet das Tannin, welches in besonderen Zellen enthalten ist, gleich eine so verdünnte Lösung, dass es das Ausziehen der Diastase nicht hindert; anders ist es, wenn der Hopfen mit wenig Wasser ausgezogen wird. Ausserdem können im Biere die Eiweissstoffe die aus dem Hopfen ausgezogenen kleinen Tanninmengen gleich fällen.

Delbrück (231) untersucht das Verhalten verschiedener Hefen gegen die Eiweissstoffe und Amide der Würzen. Es wurden zunächst vergleichsweise Maischen in der Weise hergestellt, dass entweder von vornherein bei 56° R gemaischt oder erst einige Stunden auf 35° R gehalten und dann die Temperatur auf 56° gebracht wurde. Es ergab sich, dass durch das Vorwärmen viel mehr Eiweiss aufgelöst wird und dass dieses Plus für die Hefe assimilirbar ist. Es wird also beim Maischen nicht nur Diastase in Wirksamkeit gesetzt, sondern auch ein Eiweissstoff für Hefe verdaulich machendes Ferment, welches Verf. Peptase nennen will.

Weiter fand Verf., dass aus der Betriebswürze der Versuchsbrauerei verschiedene Heferassen verschiedene Mengen der Eiweissstoffe herausnehmen, so starke Brennereihefe 61 %, Brauereihefe entsprechend der Frohberghefe 55 %, Saazer Hefe 46 % des Eiweiss. Setzt man zu den fertigen Bieren dann aufs Neue leicht verdauliche Eiweissstoffe (Asparagin) zu, so nimmt die Frohberg-Hefe diese sofort quantitativ auf, wodurch erwiesen ist, dass sie nur deshalb vorher keine weiteren Eiweissstoffe aufnahm, weil der vorhandene Rest für sie unverdaulich war. Saazer Hefe nahm ausser dem neu zugesetzten Asparagin auffallenderweise auch einen Theil des vorher unverdaulichen Eiweiss mit auf. Im Allgemeinen scheint aber festzustehen dass die Eiweissstoffe der Würze sich gliedern in 1. ganz unverdauliche 2. nur für starke Hefen verdauliche 3. auch für schwache Hefen verdauliche. Der Parallelismus dieser Gruppen mit denen der Kohlehydrate, also dem unverdaulichen Dextrin, den nur durch starke Hefen verdaulichen Körpern Maltodextrin oder Isomaltose und der auch durch schwache Hefen assimilirbaren Maltose fällt sofort auf.

Ein Vergleich der 1891er und 1893er Würzen zeigte, dass letztere entschieden eiweissärmer sind, dass aber von dem Eiweiss, welches in der Würze gelöst ist, ungefähr derselbe Theil für Hefe verdaulich ist, wie 1891. Verf. glaubt, dass die grössere Haltbarkeit des 1893er Bieres darauf zurückzuführen ist, dass die Hefe weniger Eiweiss zu bewältigen hatte. Wenn das vorhandene Eiweiss 1891 von der Hefe wirklich zur Ernährung verwandt worden wäre, so hätte sich 1891 $^1/_2$ kg Hefe pro Hektoliter mehr bilden müssen. Dem Verf. wird in der Diskussion aus der Praxis bestätigt, dass 1893 thatsächlich viel weniger Hefe gewonnen wird.

Um weiter zu prüfen, ob wirklich die Haltbarkeit des Bieres davon abhängt ob und wieviel für Hefe assimilirbare Eiweissstoffe darin sind, wurde pasteurisirtes Versuchsbier mit einer in der Versuchsbrauerei häufiger vorkommenden wilden Hefe geimpft. Es zeigte sich, dass wenn die verdaulichen Eiweissstoffe dem Bier der Hauptsache nach durch die Hefe entzogen waren, wilde Hefe nur nach Zusatz von Zucker einen schwachen und nur auf Zusatz von Zucker und Asparagin einen starken Bodensatz und Trübung hervorrief.

Um haltbares Bier zu erzielen muss man also trotz Anwendung von Reinhefe nicht nur den Zucker sondern auch die für Hefe verdaulichen Eiweissstoffe herausschaffen, weil sonst bei vorkommender Infektion das Bier sich nicht halten kann. Es ist dies durch geeignete Gährführung oder durch eiweissarme Gerste zu erreichen; vor Allem ist eine energische Vermehrung der Hefe anzustreben, wozu kräftige Lüftung das Mittel bietet.

Verf. weist noch darauf hin, dass in ähnlicher Weise wie hier die Verdaulichkeit der Eiweissstoffe auch die der Salze der Würze z. B. der phosphorsauren physiologisch quantitativ zu untersuchen sei und stellt Mittheilungen darüber in Aussicht.

Delbrück (232) empfiehlt auch zur Verminderung der Infektionsgefahr durch grössere Hefegabe und um einige Grade höhere Gährtemperatur die Gährung in der Brauerei zu beschleunigen. Um Infektionen im Lagerfass zu vermeiden, sollen durch sehr starke Vergährung auf dem Bottich die „eigentlichen Gährstoffe“ konsumirt werden. Er bespricht dann die Mittel wie das Bier im Lagerfass trotzdem die nöthige Kohlensäuremenge erhalten kann.

Dömens (233) berichtet, dass Mühldorfer drei Münchner Lagerbiere und drei Flaschenbiere untersuchte. Die Proben der ersteren wurden in den Brauereien beim Abfüllen ungefähr aus der Mitte des Lagerfasses entnommen und die Platten spätestens nach einer Stunde angefertigt. Von Flaschenbieren wurden untersucht ein Münchner Weissbier, ein pasteurisirtes Exportbier und das Tafelbier der Spatenbrauerei. Letzteres wird sehr stark eingebraut und bleibt dann $1^1/_2$-2 Jahre im Lagerfass. 1 cc Bier lieferte an Colonien

	Lagerbier		Flaschenbier		
	nicht filtrirt	filtrirt	Lagerbier	Exportbier	Tafelbier
Würzegelatine	5750	14000 u. 39250	40000	0	375
Fleischwasser-peptongelatine	5750	31250 u. 33750	41250	34	625

Auf ersterer Gelatine wuchsen meist Sprosspilze, auf letzterer meist Bakterien. Das Tafelbier lieferte nur 50 Hefekolonien, das Exportbier gar keine. (Chem. Centralbl.)

Duclaux (234) berichtet über Versuche zur Kenntniss der Veränderungen, die im Wein während der Lagerung vor sich gehen. Er bewahrte Proben von Weinen vom Puy-de-dome, die er 1872 bei Gelegenheit seiner Etudes sur le vin [1] untersucht hatte in Glasflaschen, die nur mit Korken ohne Wachs oder dergl. verschlossen waren, im Laboratorium im Dunkeln auf und zwar einerseits behufs Ausschluss von Organismenwirkung erhitzte Weine andererseits Proben von zwei derselben Sorten, die Organismen des bitteren und des umgeschlagenen Weines enthielten. Letztere kranken Weine wurden nach 12jähriger Aufbewahrung (1884), erstere, die erhitzten, nach mehr als 20 Jahren (1893) untersucht.

Probe I, die hauptsächlich Organismen die Trübung bewirken führte, ausserdem auch einige der Art, die für bittern Wein charakteristisch ist, enthielt auf Essigsäure berechnet

Im Moment des Erhitzens	6,84	g Gesammtsäure per Liter
Erhitzter Wein nach 20 Jahren	6,84	„ „ „ „
Nicht erhitzter Wein nach 20 Jahren	9,60	„ „ „ „

In dem erhitzten Wein ist also die Gesammtsäure in 20 Jahren die gleiche geblieben; das Gleiche gilt für die flüchtigen Säuren allein (1872 enthielt der Wein per Liter 2,58 g Essigsäure, 2,56 g Propionsäure) und es war keine neue flüchtige Säure durch Oxydation entstanden. Demnach haben sich die nicht flüchtigen Säuren auch nicht verändert. Da weiter das Glycerin bei der Oxydation Säuren giebt, folgt aus dem Angeführten, dass auch das Glycerin sich in dem erhitzten Weine nicht verändert hat. Ebenso hatte sich die Alkoholmenge nicht verändert und die Aldehydmenge war die gewöhnliche von weniger als 3 Decigramm per Liter, die nach Roeser (Ref. 263) aus der normalen Hefethätigkeit herrührt. Genau lässt sich die Aldehydveränderung nicht feststellen, weil dieser Körper 1872 nicht bestimmt wurde, aber zu Säure hatte er sich nicht oxydirt. Aus dem Alkohol und den Säuren hatte sich Aether in dem erhitzten Wein gebildet.

In dem nicht erhitzten Wein hatten sich die Säuren vermehrt und zwar waren vorhanden

---

[1]) Annales chim. phys. (5) t. II. 1874.

1872: 2,58 g Essigsäure, 2,56 g Propionsäure, 1,84 g nicht flüchtige Säure auf Essigsäure berechnet

1884: 3,94 „ „ 3,91 „ „ 2,5 „ „

Dabei ist zu bemerken, dass beim Umschlagen des Weines die nicht flüchtigen Säuren verschwinden, beim Bitterwerden dagegen sich vermehren.

Weiter wurde ein Wein untersucht, der hauptsächlich bitter geworden, weniger umgeschlagen war. Die nicht erhitzte Probe desselben enthielt:

	1872	1884
Gesammtsäure als Essigsäure	6.0 g	8.6 g
Flüchtige S. „ „	1.9 „	4.0 „
Nicht flüchtige S. „ „	4.1 „	4.6 „
Essigsäure	1.85 „	3.88 „
Buttersäure	0.08 „	0.17 „

Dass dieser Wein mehr bitter wie umgeschlagen war, beweist die geringe Menge flüchtiger Säure und die Zusammensetzung derselben. Die weitere Untersuchung dieser wie zweier anderer Weinproben bestätigt die oben angeführten Resultate.

Sobald also die Weine von den Krankheitsorganismen durch Erhitzen befreit waren, konnte Verf. nach 20jähriger Aufbewahrung keine Oxydation in denselben konstatiren, trotzdem der Sauerstoff durch Diffusion eindringen konnte. Dagegen war eine ziemlich beträchtliche Aetherbildung nachweisbar.

Elion (238) mischt, um Hopfenbitter und andere der Verwendung der Bierhefe zur Bäckerei schädlichen Beimengungen zu entfernen die Hefe unter Schütteln und Sieben mit Wasser und centrifugirt sie dann.

Elion (237) beschreibt zunächst eine gewichtsanalytische und eine volumetrische Methode zur Bestimmung der von Hefe producirten Kohlensäure, wobei auch die in der Gährflüssigkeit gelöste Kohlensäure durch Aufkochen ausgetrieben und mit bestimmt wurde. Er untersucht dann mit Hülfe dieser Methoden verschiedene technisch wichtige Eigenschaften der Hefe. Während sonst nach Maercker unter Gährkraft die Summe der zuckerspaltenden Kraft, welche die Hefe innerhalb eines längeren Zeitraums ausübt verstanden wird, als Triebkraft aber die Lebhaftigkeit des Eintritts der Gährung unmittelbar nach Berührung der Hefe mit der Zuckerlösung bezeichnet wird, nennt Verf. die Gesammtmenge Zucker, welche die Hefe spaltet, Gährvermögen, während er die Gährwirkung, welche die Hefe in beschränkter Zeit zu äussern vermag als Gährungsenergie oder Gährkraft bezeichnet.

Seine neuen Kohlensäurebestimmungsmethoden verwendet Verf. nun zur Prüfung der technischen Methoden zur Bestimmung der Gährungsenergie. Zunächst machte er eine grosse Anzahl Bestimmungen nach

Hayduck, wobei in einer Gährflasche 10 g Hefe und 400 cc 10 % Zuckerlösung in ein Wasserbad von 30° gestellt werden. Dann lässt man die Gährungskohlensäure eine Stunde lang entweichen, bestimmt dann die während einer halben Stunde freiwillig entweichende Kohlensäure volumetrisch und benutzt sie als Mass für die Triebkraft. Der Verf. variirte bei seinen Versuchen die Dauer der Vergährung und bestimmte dann längere Zeit in kürzeren Intervallen die Menge der frei werdenden Kohlensäure.

Bei einstündiger Vergährung erhielt er in einer halben Stunde in zwei verschiedenen Versuchen von Presshefe III 330 resp. 360 cc, von gereinigter Bierhefe 325, von ungereinigter 330 cc, von Presshefe I aber 185 resp. 122,5 cc Kohlensäure; trotzdem die letzgenannte nach dem Urtheil der Fachleute und nach Backversuchen bei Weitem besser war, gab sie also viel weniger Kohlensäure. Nach längerer Vergährung stieg bei Presshefe I die entweichende Kohlensäure beträchtlich und erreichte 287,5 cc in einer halben Stunde.

Durch diese und ähnliche Beobachtungen wurde Verf. veranlasst zu untersuchen, ob nachdem die gährende Flüssigkeit sich mit Kohlensäure sättigen konnte, die daraus entweichende Menge CO_2 der sich bildenden Menge entspricht. Es wurden 10 g untergährige Bierhefe mit 400 cc 10 % Zuckerlösung gemischt und nach halbstündiger Gährung bei 30° die entweichende Kohlensäure alle 10 Minuten gemessen. Es wurden 30, 50, 50, 55, 60, 60 cc gefunden. Durch Schütteln des Gährkölbchens wurden nun plötzlich 135 cc frei; in 15 Minuten entwichen dann aber schon wieder 55 cc aus der Flüssigkeit; die Abgabe von Kohlensäure kann demnach nicht erst dann eintreten, wenn die Flüssigkeit eine bestimmte Menge Kohlensäure aufgenommen hat. Es kann also bei fortschreitender Gasentwickelung die Kohlensäuremenge in der Flüssigkeit unter Umständen sehr wechseln und es kann auch während der Messung des freiwerdenden Gases die in der Flüssigkeit zurückbleibende Menge vielleicht nicht konstant sein. Dies würde die in der Gährungschemie viel gebrauchte Methode die gebildete Kohlensäure aus der aus der Flüssigkeit entweichenden Menge zu bestimmen völlig unbrauchbar machen und Verf. benutzte daher vergleichsweise die von ihm hier beschriebene handliche volumetrische Methode. Damit kann man die freiwillig entweichende und die im Augenblick des Aufkochens in der Flüssigkeit enthaltene Kohlensäure bestimmen und aus mehreren Versuchen mit ungleicher Gährdauer den Kohlensäuregehalt der Flüssigkeit und die Gährungsenergie an verschiedenen Zeitpunkten der Gährung berechnen.

Die Resultate zeigen, dass die Kohlensäure zuerst zwar vorwiegend in der Flüssigkeit sich löst, bald aber zu entweichen beginnt und allmählich viel Kohlensäure aus der Flüssigkeit frei wird, während gleichzeitig die Flüssigkeit mehr und mehr Kohlensäure absorbirt. Die Bestimmung der Gährkraft aus der freiwillig entweichenden Kohlensäure ist also unzulässig,

da nur wenn der Kohlensäuregehalt der Flüssigkeit derselbe bleibt, die freiwillig entweichende Kohlensäuremenge der sich bildenden gleich sein kann. Wie man bei Nichtbeachtung dieser Umstände zu fehlerhaften Schlüssen gelangt, zeigt folgendes Beispiel. Es wurde in einem Versuch in $1^1/_2$ Stunden 180, in einem zweiten 170 cc Gesammtkohlensäure producirt, während nach einstündiger Vergährung im ersten Falle in $^1/_2$ Stunde 32,5, im zweiten 42,5 cc freiwillig frei wurden. Nach letzteren Zahlen wäre also die Hefe des zweiten Versuchs um etwa 30 $^0/_0$ gährkräftiger, in Wahrheit ist es die des ersteren, die mehr Gesammtkohlensäure producirte.

Bei Zusatz von Nährstoffen wie Hefeextrakt wird im Allgemeinen bedeutend mehr CO_2 gebildet, wie mit Zucker allein. In gewissem Grade ist die Zunahme von der Menge des Nährmaterials abhängig; es kann auch der Extrakt dazu beitragen, dass bei günstigen Bedingungen mehr CO_2 gelöst bleibt.

Mit Hülfe der gebräuchlichen Methode bei Bestimmung der Gährungskohlensäure durch Gewichtsverlust des Gährkölbchens die Kohlensäure zuletzt durch einen Luftstrom aus der Flüssigkeit herauszutreiben wird letzteres sehr unvollständig erreicht, wie ein Vergleichsversuch mit des Verf. volumetrischem Apparat, in den die Kohlensäure zuletzt durch Aufkochen getrieben wird, zeigt.

Aus technischen Gründen untersuchte Verf. auch mit seiner volumetrischen Methode wann in reinen Zuckerlösungen bei Abwesenheit von Nährstoffen die Gährungsenergie nachlässt. Die folgende Tabelle zeigt, dass diese Verminderung vom Charakter der Hefe und der Gährtemperatur abhängt:

No.	Heferasse	Temp.	Gährzeit Min.	Gesammtkohlensäure cc	Stündlich prod. Kohlensäure cc
1	Obergährige Hefe	30	140	470	201
2	Dieselbe	30	215	590	165
3	„	20	151	220	87
4	„	20	242	334	83
5	Untergährige Hefe	30	143	362	152
6	Dieselbe	30	210	514,5	147
7	„	20	120	150	75
8	„	20	152	183	72
9	„	20	253	307	73

Vergleichsweise wurde auch untersucht wie Zusatz von phosphorsauren Salzen auf die Gährungsenergie wirkt. Es wurden auf 100 cc Wasser

10 g Zucker, 4-5 g Hefe und eventuell 100 mg Monokaliumphosphat und 100 mg Diammoniumphosphat genommen und die Versuche bei 30⁰ gehalten. Die Tabelle zeigt, dass die phosphorsauren Salze die Gährungsenergie wesentlich, aber bei verschiedenen Hefen ungleich stark erhöhen. Zweifellos hängt dies mit dem physiologischen Zustande der Hefe, den Heranzüchtungsbedingungen etc. zusammen. Wie weit hier die Hefevermehrung mitspielt bleibt zu untersuchen:

Hefeart	Hefemenge	Gesammtkohlensäure ohne phosphorsauren Salzen	Gesammtkohlensäure mit phosphorsauren Salzen	Durch phosphors. Salze bedingte Zunahme
	g	cc	cc	%
Untergähr. Bierhefe D	5	678	877	29.4
"	4	647	839	29.7
"	4	525	690	31.4
"	4	553	789	42.7
"	5	819	1053	28.6
"	5	800	989	23.6
"	5	689	891	29.3
Getreidepresshefe	4	557	906	62.7

Wiederholt macht Verf. darauf aufmerksam, dass die Gährungsenergie oder Gährkraft einer Hefe nicht als Mass für deren Triebkraft im Teig benutzt werden kann. So gab eine Bierhefe mit geringer Triebkraft mehr und manchmal sehr erheblich mehr Kohlensäure als eine Getreidepresshefe von ausgezeichneter Triebkraft. Meissl findet, dass 1 g Getreidepresshefe nach 6stündiger Gährung bei 30⁰ 1,4438 g CO_2, 1 g Bierpresshefe 0,9940 g CO_2 liefert. Verf. stellt deshalb bezügliche Versuche mit seiner gewichtsanalytischen Methode an und findet bei Verwendung von 1 g Hefe, 10 g Zucker, 100 cc einer mit Luft gesättigten Lösung, welche 0,5 g Diammoniumphosphat, 0,5 g Monokaliumphosphat und 30 cc Gypswasser enthielt nach 6stündiger Gährung bei 30⁰ für wenig triebkräftige Bierhefe 1,1606 g CO_2, für ausgezeichnete Getreidepresshefe 1,1968 g CO_2, also einen sehr geringen Unterschied und für letztere Hefe einen niedrigeren Werth, wie Meissl für Getreidepresshefe angiebt. Zur Bestimmung der Triebkraft genügt also die der Gährkraft nicht. Es müssen demnach im Brotteige noch andere Wirkungen der Hefe stattfinden, denen gegenüber die Menge der Gährungskohlensäure nur wenig das Aufgehen des Teiges beeinflusst. Wahrscheinlich spielt dabei ein von der Hefe produzirtes Enzym eine wichtige Rolle.

Augenblicklich lässt sich also die Triebkraft nur durch den Backversuch bestimmen, was aber auch Vorsicht erfordert, da der wechselnde Charakter des Mehles z. B. hier sehr mitwirkt. Rücksichtlich der Bedeutung der Bakterien für die Brotbereitung sei erwähnt, dass auch von Milchsäurebakterien freie Presshefe vorzügliche Triebkraft haben kann. Da Getreidepresshefe gewöhnlich der Bierpresshefe gegenüber gestellt werde, um Qualitätsunterschiede auszudrücken, so hebt Verf. hervor, dass in Bierwürze Hefe mit grösserer Triebkraft, als Getreidepresshefe besitzt, gezogen werden kann.

Schliesslich bemerkt Verf., dass das Studium der Gährungsenergie bei verschiedenen Temperaturen geeignete Merkmale zur Charakteristik der Hefevarietäten ergiebt. Manche Hefevarietäten (Bier- und Getreidepresshefen) haben das Maximum der Gährungsenergie bei 30-35^0, während bei 40^0 die Gährkraft viel geringer ist. Andere haben das Maximum bei 35-40^0 und gähren hier viel stärker wie bei 30^0, gähren aber auch bei 45^0 noch sehr bedeutend. Für die Brauerei ist wichtig, dass diese bei hohen Temperaturen eine grosse Energie entfaltenden Hefen dem Biere unangenehme Eigenschaften mittheilen und dass die bei 40^0 viel stärker wie bei 30^0 arbeitenden Hefevarietäten sich sämmtlich am besten zu Bäckereizwecken eignen.

Geringe Schwankungen der **Gährtemperatur** (239) sollen nach praktischen Erfahrungen eines ungenannten Braumeisters die Hefe schon stark beeinflussen. Eine bei 5-6^0 gut arbeitende Hefe vergohr bei 3-4^0 R langsam, die Biere hatten herben Geschmack und klärten sich schwer. Eine neu bezogene Hefe dagegen arbeitete bei 3-4^0 gut, bei 5-6$^1/_2{}^0$ vergohr sie schwach und bildete schwache Decken. Es ist demnach wichtig genau zu wissen, an welche Temperaturen sich die Hefe gewöhnt hat. (Wochenschr. f. Brauerei.)

Krieger (248) fand schon früher[1], dass die Sprosspilze nicht nach ihrer Fähigkeit zur Sporenbildung eingetheilt werden könnten, weil manche von ihnen unter gewissen Bedingungen diese ihnen vorher eigene Fähigkeit einbüssen könnten. Er wollte daher als Saccharomyceten nur solche Sprosspilze verstehen, welche Zucker in für Industrie oder Physiologie in Betracht kommender Intensität in Alkohol und Kohlensäure zerlegen. Ich habe diese Eintheilung damals als unwissenschaftlich bezeichnet, was zu meinem grossen Bedauern nach Angabe des Verf. von anderer Seite als Vorwurf gegen den Verf. aufgenommen und zum aggressiven Vorgehen gegen ihn benutzt worden sein soll. Ich habe durch jenen Ausdruck nur sagen wollen, dass eine wissenschaftliche Eintheilung, die sich auf eine physiologische Eigenschaft gründet sehr misslich ist ganz abgesehen da-

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 170.

von, dass es doch sehr von dem Belieben des einzelnen Autors abhängt, wo die „für die Industrie oder Physiologie in Betracht kommende Intensität“ der Alkoholgährung anfängt. Von einem ungerechten Vorwurf meinerseits gegen den Verf. kann daher gar keine Rede sein.

Seine Saccharomyceten theilt Verf. weiter in folgender Weise ein:

1) Nicht invertirende Torulaarten. Sprosspilze, welche nur Hexosen (Dextrose, Lävulose, Invertose) vergähren. Hierher gehören ausser S. apiculatus die von HANSEN als Torulaarten bezeichneten Sprosspilze, welche Maltose, Laktose und Saccharose nicht vergähren können, wohl aber Dextrose und Invertose.

2) Invertirende Torulaarten. Sprosspilze, welche Invertin enthalten und nur Hexosen vergähren. Die Saccharose wird von ihnen nur nach Inversion vergohren. Hierher gehören S. Marxianus, exiguus, Ludwigii HANSEN, sowie die von demselben Autor als 4. und 6. Torulaart bezeichneten Sprosspilze.

3) Weinhefen? Sprosspilze, welche ausser den Hexosen noch Maltose vergähren nicht aber Isomaltose. Hierher gehören die echten Weinhefen, speziell S. ellipsoideus I HANSEN, ferner die niedrig vergährenden Brauereihefen wie die Saazer und eine von BAU isolirte obergährige Hefe, vielleicht auch die Karlsberger Hefe II HANSEN. Die mit diesen Hefen hergestellten Biere sind wenig haltbar, weil sich darin die Hefen der nächsten Gruppe auf Kosten der Isomaltose vermehren.

4) Bier- und Alkoholhefen. Invertin enthaltende Sprosspilze, welche ausser Hexosen und Maltose noch Isomaltose wohl langsam aber vollständig vergähren. Hierher gehören alle stark vergährenden Bier- und Branntweinhefen, sowie die von HANSEN untersuchten wilden Hefen mit Ausnahme von S. ellipsoideus I.

5) Milchhefen. Sprosspilze, welche Laktose vergähren können. Hefen der Milch nach DUCLAUX, ADAMETZ, KAYSER.

Die alte Definition, wonach als Saccharomyceten alle Alkoholgährungspilze bezeichnet werden, musste nach Verf. schärfer gefasst werden, seitdem bekannt ist dass auch andere Pilze, selbst allgemein pflanzliche Zellen aus Zucker Alkohol bilden können. Der Verf. glaubt nun, dass die Saccharomyceten treffender, schärfer und mehr der althergebrachten Vorstellung entsprechend von den übrigen Sprosspilzen abgetrennt werden, wenn man sich an die Bildung von Alkohol und CO_2 aus Zucker hält, wie wenn man auf die Sporenbildung das Gewicht legt.

Die übrigen, Alkohol nicht bildenden Sprosspilze sind noch zu wenig bekannt um einer Eintheilung unterzogen zu werden. Torula heissen nach PASTEUR die in Würzen wenig Alkohol produzirenden Sprosspilze; diese bilden in Würze nur etwa 1 $^0/_0$ Alkohol weil sie nur die neben Maltose vorhandenen Hexosen vergähren. Die Torula vergähren nach HANSEN Dextroselösungen ebenso leicht, wie die anderen Alkoholhefen. In Bezug

auf Mycoderma wirft Verf. LASCHÉ vor, derselbe habe bei Beschreibung[1] von vier neuen Arten dieser Gattung nicht klar ausgesprochen, was er unter Mycoderma verstehe.

Wahrscheinlich werden die keinen Alkohol bildenden Sprosspilze mit den bis jetzt als Mycoderma bezeichneten nach Verf. in ihren allgemeinen Eigenschaften übereinstimmen.

Lefèbvre (253) glaubt, dass gewisse Zuckermengen bei industriellen Vergährungen nicht nach der PASTEUR'schen Gleichung zersetzt werden, weil durch ungeeignete Gährungsbedingungen, schlechte oder unreine Hefe theils gebildeter Alkohol weiter oxydirt, theils Zucker in Nebenprodukte verwandelt oder schwer- oder unvergährbar gemacht, auch mechanische Verluste herbeigeführt werden. Die Nebenprodukte sind wesentlich Ameisen-, Essig-, Butter- und Milchsäure, sowie höhere Alkohole. Buttersäurebakterien schädigen Hefe mehr, wie Milch- und Essigsäurebakterien. (Nach Wochenschrift f. Brauerei.)

Lindet (255) hat früher[2] schon der Ansicht Ausdruck gegeben, dass die im Fabrikspiritus vorkommenden höheren Alkohole das Produkt von der Hefe beigemengten fremden Organismen sind.

Er untersucht nun, ob sich mehr höhere Alkohole finden wenn die Maische mit Schwefelsäure oder Flusssäure versetzt wird oder wenn die Milchsäuregährung in derselben hervorgerufen wird. Im letzteren Falle nimmt der Säuregehalt der Maische mehr und mehr zu.

	Höhere Alkohole unlöslich in Wasser per Liter Alkohol von 100°	Amylalkohol p. Liter Alkohol v. 100°
Getreidemaische mit Schwefelsäure	6,41 cc	
Dieselbe ohne Schwefels. mit Milchsäuregährung	4,52 cc	
Kartoffelmaische mit Flusssäure	2.05 cc	1.43 cc
Ohne solche mit Milchsäuregährung	1.65 cc	1.30 cc

Verf. glaubt, dass dieses Resultat sich mit seiner Anschauung vereinbaren lässt, wenn man annimmt, dass die Organismen, welche die höheren Alkohole produziren, wie der Bacille amylozyme von PERDRIX[3] und der Bacillus orthobutylicus von GRIMBERT[4], durch die Säuregrade, wie sie die zugesetzten Mineralsäuren überhaupt oder die durch Gährung gebildete Milchsäure im Anfang der Alkoholgährung der Maische repräsentiren, nicht, wohl aber durch die höheren Milchsäuregrade, die gegen Schluss der Gährung vorhanden sind, in ihrer Thätigkeit gehemmt werden.

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 142.
[2]) Ebenda II, 1891, p. 129.
[3]) Ebenda p. 240.
[4]) Siehe weiter hinten unter: Verschiedene Gährungen.

Weiter findet er dagegen, dass die Maischen mit Flusssäure weniger Basen, Säuren und Aether enthielten als die mit Milchsäure. Erstere sind deshalb letzteren vorzuziehen, denn sie sind zwar reicher an höheren Alkoholen aber diese sind leichter abzutrennen wie die ebengenannten Körper:

	Maische	
Per Liter Alkohol von 100°	mit Flusssäure g	mit Milchsäuregährung g
Basen	0.107	0.127
Säuren (als Essigsäure)	0.780	1.370
Aether (als Essigäther)	0.430	1.470

Martinand (257) hat an französischen Weinen untersucht, in welchen Verhältnissen der Zucker in ev. mit Zuckerzusatz versehenen Mosten vergährt, welchen Einfluss Temperatur, Hefenart und Bestandtheile des Traubensaftes wie freie Säure und stickstoffhaltige Körper hierbei ausüben. Die Resultate sollen dem Weinchemiker gestatten aus dem Alkoholgehalt des Weines auf den Zuckergehalt des Mostes zu schliessen. (Chemikerztg.)

Reinke (261) berichtet über einige Veränderungen, die europäische Hefen in südlichen Klimaten erfuhren. Hefe der Versuchs- und Lehrbrauerei nach des Verf. Verfahren conservirt nahm in Guajaquil in Ecuador nach anfänglich guter Leistung im Betriebe überaus hohe Vergährung (über 70°) an und klärte sehr langsam, war also stark verändert. Merkwürdig ist, dass mehrere europäische obergährige Hefen in Südamerika untergährig geworden sein sollen. Dagegen ergab eine von einem Brauer nach Argentinien auf Würzegelatine mitgenommene Weissbierhefe, die unterwegs öfter umgeimpft wurde, dort ein durchaus obergähriges, recht brauchbares Weissbier.

In lange gekochten Würzen aus chilenischem Malze nimmt Hefe im Reinzuchtapparate den Fehler der Glutintrübung an, den sie dann auch in Würze aus europäischem Malze nur sehr langsam verliert.

de Rey-Pailhade (262) bemerkt, dass wenn man Presshefe in ihrem Gewicht Wasser oder Alkohol von 45° vertheilt, das Gemisch in beiden Fällen freien Sauerstoff schnell absorbirt, mit Schwefel H_2S bildet und sauerstoffhaltiges Wasser schnell zersetzt. Verschieden verhalten sich die beiden Gemische, wenn man sie bei Sauerstoffabschluss mit einigen Tropfen Indigkarmin oder Lakmus versetzt. Nur das alkoholische Gemisch entfärbt sich nach einigen Minuten durch Reduktion des Farbstoffes, der deshalb durch Schütteln des Gemisches mit Luft sich zurückbildet. Der Alkohol hat also aus der von ihm getödteten Hefe eine Substanz gebildet, welche die genannten Farbstoffe reducirt.

Wenn man den alkoholischen Brei erst durch Papier, dann durch d'Arsonval's Sterilisator filtrirt, erhält man eine Flüssigkeit, die wie der

Brei wirkt. Man kann diese Veruche auch mit Wasser, welches 2 % Fluornatrium enthält wiederholen. RAULIN hat gezeigt, dass in Hefewasser gedeihende anaerobiotische Organismen auch Indigkarmin reduziren. Da diese Mikroorganismen keinen freien Wasserstoff produciren, so müssen sie denselben oder einen ähnlichen Körper enthalten, wie den, welchen schwacher Alkohol aus Hefe bildet.

Man kann auch Indigkarmin durch lebende Hefe entfärben, wenn man die Hefe mit ihrem Gewicht Schwefel zerreibt. Dann bildet der Schwefel mit dem vom Verf. als Philothion[1] bezeichneten Bestandtheil der Hefe Schwefelwasserstoff, aus dem das Indigkarmin den Wasserstoff herausnimmt und den Schwefel in Freiheit setzt. Der Schwefel spielt hier also eine Vermittlerrolle. Eine fast unlösliche unorganische Substanz wie der Schwefel kann also die physiologischen Eigenschaften eines lebenden Wesens tiefgreifend verändern. Ein Theil des Schwefels gewisser Eiweissstoffe scheint hier als Sulfhydryl HS in Reaktion zu treten und als H_2S frei zu werden. Da H_2S sich leicht oxydirt, hält Verf. es für möglich, dass der Schwefel eine wichtige Rolle in der Physiologie der Organismen spielt. Darauf weist hin, dass Hefe, die mit dem doppelten Gewicht Alkohol von 90^0 behandelt wurde, sofort H_2S abgiebt; das Gemisch zeigt viel weniger kräftige Eigenschaften, wie das oben erwähnte mit schwachem Alkohol hergestellte.

Roeser (263) prüft, ob Aldehyd ein konstantes Produkt der alkoholischen Gährung ist. Früher schon war dieser Körper in alkoholischen Getränken nachgewiesen worden, DUCLAUX fand ihn bei der alkoholischen Gährung des Milchzuckers durch reinkultivirte Hefe und LINOSSIER und ROUX[2] bei der Vergährung von Glykose durch den Soorpilz.

Zum Nachweis des Aldehyds verwandte Verf. hauptsächlich die SCHIFF'sche Fuchsinreaktion und führte die quantitative Bestimmung durch Vergleich mit Lösungen bekannten Gehaltes aus. Weniger empfindlich ist die Reaktion von EHRLICH mit Natriumdiazobenzosulfonat. Verf. benutzte diese Reaktion zum Vergleich und führte sie in der Weise aus, dass er in ein Reagensglas, welches das Aldehyd enthielt 3-4 Tropfen 1 % Sulfanilsäure, dann ebensoviel einer frischen Lösung von $^1/_{500}$ salpetersaurem Natron und dann einen Tropfen Salzsäure brachte und nach einigen Minuten einige Tropfen $^1/_{10}$ Kali zufügte.

In verschiedenen Handelsweinen fand Verf. 0,01-0,04 g Aldehyd per Liter; ausserdem liess Verf. sterilisirten Most oder — um eine Nährlösung übersichtlicherer Zusammensetzung zu haben — Hefewasser oder LAURENT-sche Lösung[3] mit reinen Heferassen vergähren und fand stets auch hier Aldehyd.

---

[1]) Koch's Jahresbericht I, 1890, p. 32

[2]) Ebenda p. 80.

[3]) Ebenda p. 79.

Die Menge des gebildeten Aldehyds wechselt nach der Heferasse und auch nach der Natur der Gährflüssigkeit, wie die folgende Tabelle zeigt, in der die Aldehydmengen in mg per Liter angegeben sind.

Versuchsbedingungen		Heferasse					
Gährflüssigkeit	Gährdauer	Champagne	Santenay	Thann	Jurançon	Vougeot	pastorianus
1. Weisse Trauben	5 Tage bei 20°	170	140	135	135	—	—
2. Schwarze Trauben	5 „ „ 15-17°	—	160	040	035	—	—
3. Schwarze Trauben	14 „ „ „ „	072	170	040	058	—	—
4. Chasselas	14 „ „ „ „	110	—	—	—	090	010
5. Schwarze Trauben	15 „ „ „ „	055	050	030	040	095	028
6. Chasselas	14 „ „ „ „	038	—	—	080	050	—
7. Hefewasser (10 %)	8 „ „ 25°	055	060	—	035	120	—
8. Laurent'sche Lösung	12 „ „ 25°	020	—	—	—	—	040

Da Schützenberger und Destrem glaubten, dass Aldehyd bei der alkoholischen Gährung sich nur bilde, wenn die Hefe bei Abschluss der Luft gähre, stellte Verf. auch Gährversuche in luftfrei gemachten Gefässen und bei reichlichem Luftzutritt an, fand aber dass sich in ersteren viel weniger Aldehyd bilde. Bei diesen Versuchen findet Verf. auch eine gewisse Beziehung zwischen dem Hefegewicht und der Menge des gebildeten Aldehyds und schliesst daraus, dass die sich entwickelnde Hefe einen kleinen Theil des Alkohols zu Aldehyd oxydire. Er kultivirte daher Hefen in Hefewasser ohne Zucker unter Zusatz von etwa 4 Vol. % Alkohol und fand nach 20 Tagen 50-180 mg Aldehyd per Liter, während ein ohne Hefe belassenes Vergleichsgefäss nur Spuren von Aldehyd zeigte.

Die Destillate des Verf. zeigten übrigens manchmal auch eine violettrosa Färbung mit Natriumnitrocyanür, die vielleicht auf Aceton zurückzuführen ist; sie coincidirte mit höherem aber nicht dem höchsten Aldehydgehalt und schien besonders bei manchen Heferassen aufzutreten. Beiläufig erwähnt Verf. noch, dass in 1 ‰ Peptonlösungen die Hefen, die sich dort überhaupt entwickeln, sofort Sporen bilden.

Das Aldehyd kann unter den erwähnten Bedingungen nicht nur aus dem Zucker gebildet werden, da es ja in den alkoholischen zuckerfreien Flüssigkeiten unter dem Einfluss der Hefe auch entstand; es kann auch nicht nur auf Kosten anderer organischer Substanzen sich bilden, da es in der Laurent'schen Mineralsalzlösung auch auftrat. Jedenfalls ist es ein Produkt der Lebensthätigkeit der Hefezelle.

Jégou (244) erinnert daran, dass Carles den Mannitgehalt algerischer Weine einer Verfälschung mit Feigenwein zuschrieb, während Andere meinen, dass bei einer Temperatur, welche dem Saccharomyces schadet, eine Umwandlung der Glykose in Mannit eintreten kann. Verf. hat zuverlässig unverfälschte 1892er Weine von Milianah, einer Gegend, in der Feigen nicht kultivirt werden, untersucht. Diese Weine haben unter dem Einfluss des Scirocco eine fehlerhafte Gährung durchgemacht und enthalten obwohl unverfälscht bis über 8 g Mannit im Liter. Es wird davor gewarnt, solche Weine zum Verschneiden zu benutzen, weil sie sich unvermeidlich verändern und schädliche Keime mit sich führen. (Chem. Centralbl.)

Roos (264) schliesst sich auch der Ansicht von Carles, dass in gewissen Weinen deshalb beträchtliche Mengen Mannit gefunden würden, weil Feigen bei der Herstellung derselben verwendet worden seien, nicht an. Er findet vielmehr in mannitreichen Weinen Mikroorganismen verschiedenster Art. Gewisse Spezies der letzteren können Zucker in Mannit umwandeln. Besonders Algierweine werden wegen der daselbst innegehaltenen Gährungsbedingungen mannithaltig. Bei Gegenwart aktiver Hefen können die Mannitfermente nicht zur Wirkung kommen. (Chem. Centralbl.)

O'Sullivan (267) untersucht das Verhältniss der Hydrolyse zur Vergährung des Rohrzuckers. In der ersten und zweiten Versuchsreihe wurden die Rohrzuckerlösungen verschiedener Konzentration mit Hefen in verschiedenen Mengen gemischt und bei gewöhnlicher Temperatur gehalten. In der dritten Reihe erhielt a etwas Kaltwassermalzauszug und stand in Sauerstoffatmosphäre, b wurde ebenso aber in Luft behandelt, c erhielt Malzauszug und wurde in einem engen Cylinder in etwa 10 Zoll hoher Schicht der Inversion überlassen, d stand unter denselben Verhältnissen unter einem Minderdruck (110 mm), e erhielt keinen Malzauszug, stand aber in Sauerstoff, f stand ohne Malzauszug in Luft, g wurde wie f behandelt aber in einem engen Cylinder. In der vierten Reihe wurde durch

die Flüssigkeit in a, b, c ein Luftstrom geleitet, d stand in flacher Schale 8, e 13, f 20 mm hoch.

In der fünften Reihe leitete man durch a einige Minuten Luft, durch b Sauerstoff, c stand unter gewöhnlichen Verhältnissen, durch d strich beständig ein schwacher Luftstrom, f stand unter Minderdruck von 110 mm. In der sechsten Versuchsreihe wurde bei a die Hefe mit Wasser gemischt, das Gemisch 15 Minuten mit Sauerstoffstrom behandelt, dann der Zuckerlösung zugesetzt, b erhielt dieselbe Menge nicht mit Sauerstoff behandelter Hefe. (Tabelle s. umstehend.)

Der Verf. glaubt, dass zuerst sämmtliche Dextrose vergohren wird, aber auch die Lävulose sehr früh angegriffen wird, während man früher meinte, dass erst alle Dextrose vergohren wird. Verf. fand in einem 15 Tage laufenden Gährversuche das Verhältniss der vergohrenen Dextrose zu der Lävulose wie 100 : 50,3 während Bourquelot nach 20 Gährstunden = 100 : 50, nach 154 Stunden = 100 : 89 fand, wonach also dieses Verhältniss wechselt.

Verf.[1] wies nach, dass der Rohrzucker im Innern der Hefezelle invertirt wird; da ausserdem, wie eben bemerkt die Dextrose früher als die Lävulose vergohren wird, glaubt Verf. dass der Grad der Diffusibilität der Zucker wenig mit ihrer relativen Vergährbarkeit zu thun habe; die Dextrose wird in Invertzuckerlösung wohl deshalb leichter vergohren, weil dieser Zucker eine grössere Affinität zur Hefe besitzt. Während nach Graham die Lösungen krystalloider Körper im Verhältniss ihrer Konzentration durch Membran diffundiren, fand Verf., dass die Konzentration der Rohrzuckerlösungen nicht einen gleichen Einfluss auf die Inversion des Zuckers habe, trotzdem die Inversion im Innern der Hefezelle vor sich gehe. So wurden in einer 5 % Lösung 4,092, in 10 % 5,096, in 20 % 5,560 g Rohrzucker invertirt.

Verf. erinnert daran, dass er und Tompson[2] zeigten, dass unter den günstigsten Bedingungen die Menge der angewandten Invertase im umgekehrten Verhältniss zur Dauer der Inversion stehe. Später zeigte Verf.[3], dass die Menge des durch Hefe invertirten Rohrzuckers bei Lösungen bis zu 20 % proportional der Menge der angewandten Hefe und wenn die Hefezellen zersprengt wurden die hydrolytische Wirkung dieselbe wie bei unverletzter Hefe war. A. J. Brown[4] fand dass beim Vorhandensein gleicher Mengen sich nicht vermehrender Hefezellen in Zuckerlösungen mit 5-20 % Zucker die Menge des in der Zeiteinheit vergohrenen Zuckers an-

---

1) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 256.
2) Ebenda I, 1890, p. 170.
3) Ebenda III, 1892, p. 258.
4) Ebenda III, 1892, p 103.

Reihe	Versuch	Rohrzucker in 100 cc g	Verhältniss des Rohrzuckers zur angewandten Hefe 100:	Dauer der Inversion. Stunden	Invertirter Rohrzucker %	Vergohrener Rohrzucker %	Verhältniss des invertirten zum vergohrenen Rohrzucker. 100:
I	a	10	0.4	8	16.21		
				27	43.24		
				54	66.62	0	
	b		0.8	8	33.97		
				27	69.11		
				54	87.64	0	
	c	20	0.4	8	17.76		
				27	43.43		
				54	69.90	0.8	1.1
	d		0.8	8	30.79		
				27	66.40		
				54	88.60	2.0	2.2
	e	30	0.4	8	15.37		
				27	39.38		
				54	65.30	0.8	1.2
	f		0.8	8	27.92		
				27	61.90		
				54	83.06	1.0	1.2
	g	40	0.4	8	14.80		
				27	34.40		
				54	58.72	0.6	1.2
	h		0.8	8	25.87		
				27	55.27		
				54	62.52	1.0	1.6
II	a	10	0.4	2.0	3.47		
				4.0	7.52		
				10.3	20.46		
				23.2	42.27		
				28.5	50.96		
				46.6	74.63		
				144.0	100.00	0.9	0.9
II	b	10	0.8	2.0	6.56		
				4.0	18.14		
				10.3	41.50		
				23.2	67.37		
				28.5	79.92		
				46.6	89.76		
				144.0	100.00	0.9	0.9
III	a	24	3.7	18	81.0	1.6	2.0
	b				81.0	1.6	2.0
	c				89.1	1.9	2.1
	d				85.0	1.9	2.0
	e				87.7	3.2	3.0
	f				87.3	1.5	1.7
	g				92.3	3.2	3.4
IV	a	34	8.0	17	100	1.9	1.9
	b					1.9	1.9
	c					2.3	2.3
	d					2.1	2.1
	e					3.2	3.2
	f					3.7	3.7
V	a	28	0.85	21	52.2	0.6	1.1
				45	83.9	0.7	0.9
	b			21	54.3	0.6	1.1
				45	77.7	1.0	1.1
	c			21	45.3	0.6	1.3
				45	76.5	0.6	0.8
	d			21	57.3	0.6	1.1
				45	78.2	1.4	1.8
	e			21	52.1	0.6	1.1
				45	79.5	1.9	1.1
VI	a	32.2	1.2	16	56.3	0.3	0.5
	b					0.4	0.7

nähernd die gleiche war, wonach die Diffusion wohl ein wichtiger aber nicht ausschlaggebender Faktor bei der Gährung ist. Verf. und Tompson zeigten (l. c.) dass die Invertase durch eine Pergamentmembran nicht diffundirt; von anderer Seite wurde angegeben, dass Invertase und Diastase durch poröse Thonwände nicht hindurch gehen. Verf. fand aber, dass diese Fermente durch die Thonzellen galvanischer Batterien hindurch gehen, die Diffusate aber stetig abnehmende Wirkung zeigen; Stärkekleister soll durch diese Zellen auch diffundiren.

Da die invertirende Wirkung der Hefe eine Funktion des Hefeplasmas ist, hängen die Resultate der Versuche von der verwendeten Hefemenge ab. (Nach Wochenschr. f. Brauerei.)

Tanret (268) beschreibt zwei neue Kohlehydrate aus Topinambourknollen Synanthrin und Helianthenin, von denen ersteres die Formel 8 $(C_{12} H_{10} O_{10}) H_2 O_2$, letzteres 12 $(C_{12} H_{10} O_{10})$ 3 $H_2 O_2$ hat. Beide werden durch Bierhefe vergohren, ersteres unter gewöhnlichen Bedingungen schwierig.

Villon (270) versuchte auf Beaujolais-Most Untergährung anzuwenden und kühlte ihn zu dem Zweck mit flüssiger Kohlensäure und einer Kühlschlange auf 4^0 herunter. Ohne Hefezusatz vergährt der Most dann spontan sehr träge und unvollständig. Auch nach Zusatz einer ordentlichen Portion Hefe ist die Gährung zwar kräftiger, aber ebenfalls auch nach längerer Zeit nicht vollständig. Wenn man gleichzeitig mit reinem Sauerstoff lüftete arbeitete die Hefe kräftiger und der Wein war mehr vergohren.

Als man aber die Weinhefe durch 15 successive Kulturen in gekühltem mit Kohlensäure und Porzellanfiltern sterilisirten Weinmost an die Kälte nach und nach gewöhnte, vergohr sie Most regelmässig, wenn auch langsamer aber vollständig. Der Wein hatte ein feineres angenehmeres Bouquet. Der daraus gewonnene Spiritus war auch feiner, wie der aus gewöhnlich vergohrenem Wein. Durch die Untergährung bewahrt der Wein sein Aroma und es bilden sich nicht die ätherischen Produkte, die seine besonderen Eigenschaften modifiziren oder verbergen, wie dies beim algerischen Wein vorkommt. Verf. fordert die Weinbauer zu ähnlichen Versuchen auf.

Hefereinzucht.

Delbrück (230) macht interessante Angaben über die Versuche der ihm unterstellten Station betreffend Auswahl einer reingezüchteten Brennereihefe.

Bei der Abgabe der im Laboratorium geprüften Hefen in die Praxis zeigte sich, dass eine sich im Laboratorium hinsichtlich ihrer Gährwirkung auszeichnende Hefe Nr. 4 sich in dieser Beziehung in der Praxis anders ver-

hielt. Da im Laboratorium mit Maismaische, in der Praxis mit Kartoffelmaische gearbeitet wurde, so wurden nun auch Laboratoriumsversuche mit Kartoffelmaische gemacht und gefunden, dass Hefe No. 4 in dieser nicht gut vorwärts kommt.

In	Maismaische	lieferte	Hefe	No.	4	an	Alkohol	13,9
„	„	„	„	„	2	„	„	13,7
„	„	„	„	„	3	„	„	13,2
„	Kartoffelmaische	„	„	„	4	„	„	11,5
„	„	„	„	„	3	„	„	13
„	„	„	„	„	2	„	„	13,2

Mit der Hefe 2 wurde daher nun in einer grossen Anzahl Brennereien gearbeitet und Mehrerträge von $^{2}/_{10}$-$^{3}/_{10}$ % erzielt, also ungefähr solche, wie sie von den Vertretern des Flusssäureverfahrens in bestgeleiteten Brennereien erwartet werden. Der Verf. hält diese Mehrerträge jedenfalls für gross genug, um der Frage in jedem Falle näher zu treten. In einzelnen Fällen ist auch sofort nach Ersetzung der früheren Hefe durch die Hefe No. 2 der Ertrag prozentweise in die Höhe gegangen. Verbunden mit dem Mehrertrag ist eine Verminderung des Säuregehaltes, merkwürdigerweise aber in einzelnen Fällen auch eine Steigerung der Alkoholerträge ohne erheblich bessere Vergährung. Dies ist nur durch die Beseitigung der Unreinlichkeit der Gährung zu erklären. Ein praktisch wichtiger, vielfach konstatirter Vortheil ist, dass man bei Verwendung der Hefe No. 2 mit geringerem Steigraum auskommt, offenbar weil bei der intensiv wälzenden Gährung die Kohlensäure leichter entbunden wird.

Diesen Vortheilen gegenüber steht aber nun, dass in einer grossen Anzahl der Brennereien die Hefe No. 2 Schaumgährung hervorrief, die in einem Theil der Brennereien mit den gewöhnlichen Mitteln, in einem anderen aber dadurch nicht zu bewältigen war.

Zu erwähnen ist noch, dass auch mit Flusssäure arbeitende Brennereien bei Verwendung der Reinhefe noch eine Ertragssteigerung erzielten. Versuche neben Reinhefe Formaldehyd zu verwenden scheinen auch einen gewissen Erfolg gehabt zu haben.

Der Verf. war nun der Ueberzeugung, dass durch eine andere Hefeführung die Schaumgährung zu beseitigen sei und es wurde vom Verein der Spiritusfabrikanten ein bezügliches Preisausschreiben an die Brennereien erlassen. Verf. präzisirt die Frage so: Kann man in der Kunsthefenführung ohne Aenderung des Rohmaterials oder des Maischverfahrens für die Hauptmaische die Hefe so beeinflussen, dass sie in einem Falle Schaum bildet, im anderen nicht. Er war überzeugt, dass es einen geilen Zustand der Hefe giebt, in dem man sie zu starker, vielleicht mit Schaumbildung verbundener Thätigkeit anregen kann, während sie im trägen Zustand langsam aber energisch wirkt und gut ohne Schaum vergährt. Geil ist die

Hefe, so lange sie sprosst, träge wird sie wenn das Sprossvermögen unterbunden wird. Letzteres ist bei der künstlichen Hefeführung durch Alkohol zu erreichen. Wenn 5 % Alkokol in der Maische vorhanden sind, sprosst die Hefe nicht mehr und dies tritt daher in konzentrirten Maischen, die man bis zu 10 % vergähren lassen kann ein. Mehrere Bearbeiter des Preisausschreibens haben dem eben Gesagten entsprechend gefunden, dass wenn sie eine Hefe kalt anstellen und mit verhältnissmässig wenig Mutterhefe dünn maischen, mehr Schaum entsteht, während umgekehrt, wenn sie eine konzentrirt gemaischte Hefe wärmer anstellen und stärker vergähren lassen, der Schaum ausbleibt. Ein anderer Preisbewerber Hesse (Wutzig) ist einem neuen Gedankengange gefolgt. Wenn die besten Brennereihefen die sind, welche hohen Alkoholgehalt erzeugen und also auch ertragen, so muss man diese allein am Leben erhalten können, wenn man käufliche Presshefe in konzentrirter Maische bis zu sehr hohem Alkoholgehalt vergähren lässt. Die schwächeren Hefen sterben dabei ab und man erreicht so eine Naturreinzüchtung. Zweitens muss die Hefe der Praxis auch eine hohe Temperatur ertragen. Man lasse daher die Temperatur bei der Hefeführung möglichst hoch steigen und wird so wieder schwache Hefen ausscheiden. Die dadurch erhaltenen Hefen sind nun so stark, dass sie zur Schaumbildung neigen. Diese Neigung kann aber durch starke Vergährung und hohe Endtemperatur von 24° R bekämpft werden, beides bewirkt trägen Zustand. Der Preisbewerber glaubt dies durch Versuche erhärtet zu haben und Verf. hält eine eingehende Prüfung derselben für nothwendig.

Seine oben erwähnten Anschauungen setzt **Delbrück** (229) ausführlicher in einer Reihe von Artikeln auseinander, in denen zugleich gezeigt wird auf welche Weise diese Anschauungen durch Abänderung der Arbeitsweise im Betriebe geprüft werden können. Diese Ausführungen sollen also als Richtschnur bei der Bearbeitung des erwähnten Preisausschreibens dienen und es sei aus denselben hier noch Einiges nachgetragen. Seinen Grundgedanken stellt Verf. hier in folgender Form dar: „Die Gährungsform insbesondere die Schaumgährung hängt ab von dem physiologischen Zustande, in dem sich die Hefezellen beim Anstellen der Maische mit Hefe befinden; sie ist eine Folge der Hefeführung. Physiologische Zustände der Hefe sind der geile und der träge, zwischen denen der normale liegt. Die Geilheit wird hervorgerufen durch reichliche Ernährung mit passenden stickstoffhaltigen Nährstoffen und Aschenbestandtheilen, Lüftung der Hefenmaische, hohe Temperatur, Bewegung, Gegenwart indifferenter Stoffe, genug alle diejenigen Verhältnisse, welche kräftigste Vermehrung der Hefe hervorrufen. Sie kann sich naturgemäss nur entwickeln, wenn die letzte Bedingung für eine starke Vermehrung der Hefezellen gegeben ist, nämlich eine geringe Aussaat. Unter bestimmten Ernährungs-, Konzentrations-, Lüftungsverhältnissen können in einem gewissen Maass von Hefenmaische nur eine

gewisse Menge von Hefenzellen entstehen. Nicht die ausgesäeten Hefezellen, sondern die in der Hefe neu entstandenen jungen Zellen sind sprosslustig. Träge wird eine Hefe durch alle die Einflüsse, welche die Vermehrung hindern, also ungenügende Ernährung in Bezug auf stickstoffhaltige Körper, Mangel an Luftzutritt und Bewegung, Mangel an indifferenten Stoffen, endlich auch durch eine Verhinderung der Sprossung durch zu starke Ansammlung von Alkohol oder Kohlensäure oder sonstigen sprosshemmenden Stoffen in der Hefenmaische. Im gleichen Sinne wirkt auch starke Hefeaussaat, denn diese macht die Neubildung zahlreicher Hefegenerationen unmöglich. Geringe Säuremenge in der Hefenmaische macht die Hefe träge, höhere sprosslustig, noch höhere wieder träge. Diese Anschauungen des Verf. gründen sich auf experimentelle Untersuchungen seines Laboratoriums und Erfahrungen aus der Brauindustrie. Als mangelhaft wird dort der Bruch der Würze bezeichnet, wenn die Hefe bei nachlassender Gährung sich unvollständig und locker zu Boden setzt und die Würze deshalb trübe erscheint; bei gutem Bruch ballt sich die Hefe zu dickeren Klumpen, zwischen denen die Flüssigkeit klar erscheint, und die sich schnell und fest zu Boden setzen. Bei mangelhaftem Bruch ist die Hefe geil, bei gutem träge.

Mittheilungen der Preisbewerber und solche über Prüfung der Verfahren derselben in der Praxis finden sich in der Zeitschrift für Spiritusindustrie 1893 No. 9, 10, 12, 38, 48. Der oben von Delbrück schon erwähnte Hesse (p. 157) fasst seine Ansichten und Resultate wie folgt zusammen: Jede kräftige reine Hefe kann unter günstigen Umständen Schaum erzeugen, wenn sie in voll ausgewachsenem Zustande zur Verwendung kommt. Das Kriterium für den ausgewachsenen Zustand bildet in erster Linie die erreichte Endtemperatur bei der Gährung, in zweiter Linie erst der Grad der Vergährung. Die Schaumgährung kann abgeschwächt oder unterdrückt werden durch Verwendung einer Hefe, welche in der Intensität ihrer Gährwirkung abgeschwächt ist. Die Abschwächung erfolgt sicher dadurch, dass man die Gährtemperatur der Hefe bis gegen die Grenze der Vegetationsfähigkeit derselben steigen lässt, etwa bis 25° R. Der höhere oder geringere Grad der Abschwächung ausgedrückt durch die erreichten Endtemperaturen zwischen 20-25° wirkt auf den Zeitpunkt des Eintretens der Schaumgährung derart ein, dass bei 20-21° der Schaum gleichzeitig mit der Hauptgährung sich einstellt, während bei 24-25° R die bedeutend verminderte Schaumbildung sich erst bei Schluss der Hauptgährung einstellt oder ganz ausbleibt. Durch Herabgehen mit der Endtemperatur hat man es in der Hand die Schaumgährung beliebig hervorzurufen; die Vergährung der Hefe muss dabei stets zu Ende geführt sein und darf zwischen $1^1/_2$ und $3^1/_2$ schwanken. Vielleicht kann auch eine unreife noch kräftig sprossende Hefe die Schaumbildung verhindern. Der Zustand der Mutterhefe ob unreif, reif oder überreif im Zeitpunkt des Anstellens ist auf die Hefe selbst-

redend von Einfluss. Jedenfalls ist der physiologische Zustand der Hefe selbst nur allein massgebend für die späteren Erscheinungen in der Hauptmaische.

Anhangsweise sei aus dem Vortrag von DELBRÜCK noch erwähnt, dass man auch durch Aenderungen in der Zusammensetzung der Maische durch höheres Dämpfen der Kartoffeln (bis 4 Atmosphären), Ablassen des Fruchtwassers, Verwendung von Hafermalz oder anderer Kartoffelsorten die Schaumgährung bekämpfen kann.

Wortmann (274) hebt die Bedeutung der Anwendung reiner ausgewählter Heferassen für die Schaumweinbereitung hervor. Bei dem bisherigen Verfahren, wo man die Hefeentwicklung in dem mit Zucker versetzten Wein dem Zufall überliess, können in der oft langen Zeit bis zum Eintritt der Gährung sich Schimmelpilze und andere unerwünschte Organismen entwickeln und dem Weine unangenehmen Geruch und Geschmack ertheilen. Auch wenn man dem in Gährung zu bringenden Wein kleine Mengen von bereits gährenden Flüssigkeiten zusetzte hatte man keine Garantie dafür ob man Hefe mit guten oder schlechten Eigenschaften oder andere für den Geschmack des Schaumweines schädliche Organismen hineinbrachte.

Vor Allem ist es für die Schaumweinbereitung wichtig, dass die verwendete Hefe nicht schleimig sondern „körnig“ ist und sich beim Rütteln schnell und vollständig auf dem Pfropfen sammelt, ohne an der Flaschenwand lange haftende Streifen zu bilden. Es ist daher wichtig bei der Auswahl einer reinen Hefe für die Schaumweinbereitung eine körnige zu wählen. Ein weiterer Vortheil der Verwendung einer bestimmten reinen Hefe in der Schaumweinfabrikation liegt darin, dass so Schwankungen im Geschmack des fertigen Produktes vermieden werden, die durch die Verschiedenheit der bei der spontanen Vergährung sich in den Einzelfällen zufällig entwickelnden Heferassen bedingt werden.

Der Verf. hat nun in einer Geisenheimer Schaumweinkellerei Versuche mit zwei Johannisberger, einer Kreuznacher und einer Walporzheimer Hefe in der Weise gemacht, dass mit jeder Hefe ein Fass gezuckerter Wein in Gährung gesetzt und der Wein dann auf Flaschen gefüllt wurde. Eine Schloss Johannisberger Hefe setzte sich beim Rütteln ganz hervorragend sauber und schnell wie feinkörniger Sand zu Boden.

Die Erscheinung, dass eine Hefe sich schneller zu Boden setzt, wie eine andere, beruht darauf, dass die Zellen der ersteren spezifisch schwerer sind und wohl auch darauf, dass letztere schleimige Zellwände hat, mit denen sie an den Glaswänden hängen bleibt. Die erwähnte sich so schnell setzende Johannisberger Hefe zeigt ausserdem auffallend grosse Zellen und ist überhaupt die grösste aller vom Verf. bisher reinkultivirten Weinhefen.

Die vier aus dem gleichen Wein mit den verschiedenen Hefen herge-

stellten Schaumweine zeigten sich verschieden in Geschmack und Bouquet. Am besten war der mit der erwähnten, sich schnell absetzenden Johannisberger Hefe II vergohrene Wein, dann folgte der mit Walporzheimer, dann der mit einer anderen Johannisberger Hefe I und zuletzt der mit Kreuznacher Hefe hergestellte Schaumwein. Der Säuregehalt des Versuchsweines war beim Umgähren derselbe geblieben (0,8047 $^0/_0$ als Weinsäure berechnet); über die von den verschiedenen Hefen produzirten Alkohol- und Glycerinmengen giebt folgende Tabelle Aufschluss:

	Alkohol Vol. $^0/_0$	Glycerin g in 100 cc
Versuchswein	11.00	0.5362
Schaumwein der Johannisberger Hefe I	11.52	0.6412
„ „ „ „ II	11.96	0.5910
„ „ Kreuznacher Hefe	12.05	0.5454
„ „ Walporzheimer „	12.13	0.5824

Auch hier haben also verschiedene Hefen verschiedene Mengen von Alkohol und Glycerin geliefert[1].

Die erwähnte Johannisberger Hefe erscheint demnach für die Schaumweinfabrikation hervorragend geeignet und ist deshalb von der genannten Kellerei im grossen Massstabe verwendet worden. Der Verf. fordert daher auch Andere zu Versuchen auf.

Nathan (258) hat auch gefunden, dass gewisse Heferassen den Flüssigkeiten, welche sie vergähren bestimmte Geruchs- und Geschmackstoffe verleihen. Er hat eine grössere Reihe von Weinheferassen isolirt und ihre Eigenschaften verglichen. Bei solchen Versuchen verwendete er durch Kieselguhrfilter filtrirten Most (wohl aus dem konzentrirten italiänischen Most durch Verdünnung hergestellten) und bemerkte dabei dass der filtrirte Most nicht so kräftig gohr wie der unfiltrirte (S. Tab. auf folg. Seite). Seiner Erklärung freilich, dass die Pektinstoffe beim Filtriren zurückbleiben und dass an diesen sonst die Hefen haften und so dem Moste eine grössere Oberfläche bieten, wird man kaum beipflichten.

Da es bekanntlich für die Verwendung reiner Weinhefen bei der Obstweinbereitung wichtig ist, dass der Saccharomyces apiculatus nicht aufkommt und diese Form durch das Vorhandensein von Alkohol im Moste

[1]) Vergl. Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 151 unter Wortmann.

unterdrückt wird ist es nöthig die reine Weinhefe sofort nach dem Keltern in genügender Menge zuzusetzen, damit der Most schnell in kräftige Gährung kommt. Verf. hat aber auch mit gutem Erfolg versucht durch Zusatz von 2 % Alkohol oder 10-15 % Wein zum Most den S. apiculatus zu unterdrücken. Setzt man dann keine reine Weinhefe zu, so ist die Gährung sehr gering und meist zeigt sich kräftige Bakterienentwicklung.

Hinsichtlich der Gährungshemmung durch den Säuregehalt des Mostes, der bei Beerenmosten erheblich ist, zeigte sich, dass mit Wasser stark verdünnte und also säureärmere Moste schwächer gohren als weniger verdünnte. Andererseits zeigte sich bei verschiedenem Weinsäurezusatze zu einem gallisirten Beerenmoste die gährungshemmende Wirkung der Säure. Also ist der höhere Extraktgehalt die Ursache der schnelleren Vergährung der weniger verdünnten Moste. Die Nachtheile des höheren Säuregehaltes kommen hier gegenüber den Vortheilen eines höheren Extraktgehaltes nicht in Betracht. Der Verf. will dies durch die Versuche der folgenden Tabelle veranschaulichen, wo die Moste alle auf 27° Balling gestellt waren eventuell unter Zuhülfenahme von stärkerem Zuckerzusatz. (Tabelle s. umstehend.)

Tage	Unfiltrirter Most CO_2 Gramm	Filtrirter Most CO_2 Gramm
1	4.70	2.70
2	7.40	6.20
3	6.40	5.50
4	5.20	4.50
5	4.40	3.90
6	3.90	3.40
7	3.20	2.70
8	3.20	2.60
9	3.20	2.60
10	2.10	2.00
11	2.10	2.00
12, 13	3.00	3.00
14	1.40	1.50
15	1.20	0.70
16, 17	1.60	2.00
18	0.80	0.70

In der Praxis soll man deshalb nicht gleich vollständig verdünnen sondern erst die Hefe stark zur Entwicklung bringen, den Most durch rasche Alkoholerzeugung über die Gefahr des Krankwerdens hinwegbringen und dann erst Wasser zusetzen. Verf. betont auch, dass es den stark gallisirten Beerenweinen besonders aus Heidelbeeren an Nährstoffen speziell Stickstoff für die Hefe fehle und dass daher ein Zusatz von weinsaurem Ammon sehr günstig für den schnelleren Abschluss der Gährung sei.

Verf. empfiehlt schliesslich folgendes Verfahren für die Beerenwein-

Konzentration des Mostes	Säuregehalt des Mostes	Gesammt-Kohlensäure Gramm	Alkohol
36 Theile Saft 64 „ Zuckerwasser	4 ‰ Säure	154,1	7,30 %
48 „ Saft 52 „ Zuckerwasser	5,1 „ „	173,3	8,40 „
60 „ Saft 40 „ Zuckerwasser	6,5 „ „	196,9	9,45 „
72 „ Saft 28 „ Zuckerwasser	8,1 „ „	213,1	10,34 „

bereitung mit reiner Weinhefe. Roher Saft aus den ersten reifen Beeren (3-4 Kilo) wird mit der Weinhefereinkultur in einer Glasflasche mit Gährverschluss angesetzt und nach und nach weitere 2-3 Liter zugesetzt bis so eine ziemlich grosse Hefestammkultur herangezogen ist. Die weiter geernteten Beeren werden dann gemahlen und mit der Hälfte der Hefestammkultur auf den Häuten in Bottichen mit Senkböden angegohren. Nach einigen Tagen werden die Beeren abgepresst und der Saft mit der anderen Hälfte der Stammkultur versetzt. Nach stürmischer Gährung wird dann der Wein nach 3-4 Tagen auf ein anderes Fass gelassen, bei welcher Gelegenheit er Wasser, Zucker und Ammoniumtartrat (20 g per Hektoliter) zugesetzt erhält. Die nachfolgende Ernte wird dann theilweise mit dem stark gährenden Wein infizirt. Der von der Kelter laufende Saft gelangt in das soeben abgezogene Fass, worin ein grosser Theil der Hefe verblieb. Der Wein vom ersten Fass, in dem der Zucker nun völlig vergohr, kommt in den Lagerkeller, die Hefe wird zu weiterer Gährung verwendet. Die Anfangsgährung geht sehr schnell, weil die Weine erst beim zweiten Umfüllen gallisirt werden.

Stellwaag (266) beschreibt die verschiedenen Manipulationen der Reinzucht von Brauereihefe, Herstellung der Nährsubstrate, Unterscheidung von Kulturhefen und wilden Hefen, unächten Saccharomyceten, Untersuchung von Wasser und Luft für brautechnische Zwecke. Im Anschluss daran bespricht er ganz kurz Bau und Entwickelung der für die Brauerei in Frage kommenden Bakterien und einiger Schimmelpilze. Für in mikroskopischen Arbeiten nicht ganz Ungeübte kann die kleine Schrift wohl die nöthigen Fingerzeige geben, für Andere dürfte die Darstellung zu knapp sein.

van Laer (251) empfiehlt zur Hefereinkultur einen Gelatinetropfen mit genügend vielen Hefezellen auf den Objektträger zu bringen, ihn halberstarrt mit einem Glimmerplättchen zu bedecken, die Colonien zu be-

zeichnen, das Glimmerplättchen abzunehmen und aus den isolirten Colonien abzuimpfen.

Zur Charakterisirung einer Hefenrasse will er sie während der Gährung mit Saazer und Frohberghefe durch Polarisation vergleichen. (Bull. assoc. belge des chimistes.)

Jörgensen (247) findet nach den bisherigen Erfahrungen, dass die Grundidee von HANSEN's System für Obergährungsbrauereien ebenso tauglich ist, wie für die mit Untergährung. Das Bedenken englischer Brauer, ob eine einzige ausgewählte Hefeart die für gewisse englische Biere nöthige Nachgährung leisten könne ist dadurch widerlegt, dass WILSON in der grossen Brauerei von COMBE & CIE in London das ganze System erfolgreich durchgeführt hat. (Chem. Centralbl.)

Seifert (265) hat amerikanischen Most mit Marsalahefe vergohren und nach besserer Vergährung einen Wein mit Marsalageschmack ohne den charakteristischen Fuchsgeschmack der amerikanischen Weine erhalten

	Spontan vergohren	Mit Marsalahefe vergohren
Spez. Gewicht	1.0034	1.0016
Alkohol	3.23	9.35
Extrakt	3.85	3.74
Zucker	0.59	0.35
Asche	0.30	0.34
Gesammtsäure	1.61	1.52

(Chem. Centralbl.)

Lévy (254) versuchte Topinambourwürze vortheilhafter, als dies bei dem gewöhnlichen Verfahren möglich ist, mit einer Weinhefe zu vergähren. Zu diesem Zwecke wurden die zerschnittenen Topinambour je 4-5 Stunden mit dem 4fachen Gewicht Wasser von 60°, welches 2 ‰ saures weinsaures Kali enthielt, zwei Mal behandelt und eine Flüssigkeit vom spez. Gewicht 1,03-1,04 erhalten. Die dreimal sterilisirte Flüssigkeit wurde durch eine Romané Conti-Hefe, die JACQUEMIN für den Verf. präparirte, unter Lüftung bei 20-25° in drei Tagen vergohren. Bei der Destillation der abgegohrenen Flüssigkeit gehen zuerst einige Tropfen einer bei 25-28° siedenden, reducirenden Flüssigkeit über, die offenbar hauptsächlich aus Aldehyd besteht. Die nun folgenden 5 % des Gesammtalkohols riechen auch noch stehend und reduciren. Die weiter übergehenden 76 % des Gesammtalkohols riechen sehr gut. Bei 80° destilliren dann 16 % Alkohol über, die weniger ausgezeichnet aber immer noch gut riechen. Die letzten 1,6 % Alkohol gehen dann in einer trüben, nach Buttersäure riechenden Flüssigkeit bei 95° über. Verf. findet daher, dass die Topinambourvergährung mit dieser Hefe gegenüber dem gewöhnlichen industriellen Verfahren ein qualitativ und quantitativ besseres Resultat giebt.

Greg (241) beschreibt die Unsicherheit des Betriebes der Rumfabriken in Jamaika hervorgerufen durch Bakterieninvasionen und die Verschiedenheit der Eigenschaften der bei der spontanen Vergährung der Zuckerrohrrückstände arbeitenden Hefen. Er hat aus solchen Zuckerrohrmaischen dann bei Jörgensen Hefen isolirt, die praktisch sehr verschieden günstige Gährprodukte lieferten und empfiehlt die Verwendung ausgesuchter reiner Hefen in der Rumfabrikation.

Antiseptika etc.

Effront (235) hat in Verfolg seiner bekannten Untersuchungen[1] über die Verwendung der Fluorverbindungen in den Alkoholgährungsindustrien weiter den Einfluss dieser Körper auf die Hefen selbst geprüft. Früher fand er, dass ein Zusatz von 100 mg Fluorammonium die Hefevermehrung schwächte und ein solcher von 300 mg sie ganz aufhob. Er untersuchte nun ob es sich hier um eine vorübergehende Paralyse der Hefe oder eine organische Veränderung derselben handele. Er experimentirte mit Saccharomyces cerevisiae, pastorianus I, Carlsberg und Burton. Zuerst wurden die Hefen in Würze mit 300 mg Fluorammonium kultivirt, dann in fluorfreie Würze gebracht. Sie gewannen hier sofort ihre Gährthätigkeit wieder und zeigten eine ganz ausserordentliche Vermehrungsfähigkeit, besonders S. cerevisiae. — Jede Zelle dieser Hefe vermehrte sich normaler Weise auf 8, hier auf 77 Zellen, also fast 10mal so stark.

In diesem Falle waren die Hefen nur 48 Stunden mit dem Fluor in Verbindung; neue Versuche machte Verf. nun mit längerer Einwirkungsdauer und in der Weise, dass sich die Hefe successive an das Fluor gewöhnen konnte.

Er liess Würze mit 20 mg Fluorür bis zum Verschwinden von $^1/_4$ des Zuckers vergähren, setzte wieder 10 mg Fluorür zu und liess vergähren bis die Hälfte des Zuckers verschwunden war. Dann brachte er 100 cc dieser gährenden Würze in 900 cc frische Würze, die 40 mg Fluorür enthielt. Nachdem $^1/_4$ des Zuckers wiederum verschwunden war, wurden wieder 10 mg Fluorür zugesetzt und weiter wie oben verfahren. Schliesslich wurde drittens die Hefe mit 70 mg Fluorür im Anfang angesetzt und wie oben weiter verfahren, wobei der Zusatz von Fluorür wieder nur in dem Momente der Bildung neuer Zellen geschah, welcher Moment dem Verschwinden von $^1/_4$ des Zuckers entspricht; zuletzt gohren dann die vier Hefen bei Gegenwart von 300 mg Fluorür. Sie hatten also successive eine gewisse Immunität gegen dies Antisepticum erlangt. Während nun anfänglich erst in 4-6 Tagen $^1/_2$ des Zuckers vergohr,' erhielt man durch 5-6 Umzüchtungen in Würze, die 300 mg Fluorür enthielt, Hefen, die viel kräftiger waren und leicht voll-

[1]) Koch's Jahresbericht I, 1890, p. 72; II, 1891, p. 154.

ständige Vergährungen hervorriefen. Die Hefevermehrung blieb dabei fast immer unter der normalen. Die Gährkraft war aber mindestens zehn Mal stärker wie gewöhnlich. Die Hefe hat auch die sehr werthvolle Eigenschaft angenommen, dass man sie bei Verwendung in der Spiritusfabrikation nicht mehr das Stadium des sauren Hefengutes passiren zu lassen braucht.

Verf. schliesst aus diesen Versuchen, dass die Vermehrungsfähigkeit verschiedener Heferassen in mit 2-300 mg Fluorür versetzter Würze verschieden abgeschwächt wird, dass solche Würzen zum Cultiviren aller Bierheferassen wenn man sie vorher an das Fluorür gewöhnt hat benutzt werden können, dass endlich die Hefen durch successive Gewöhnung an steigende Dosen Fluorür ein zehn Mal grösseres Gährvermögen erlangen. Diese Behandlung reichert die Hefen also mit Eigenschaften an, die von gewissen Physiologen als das Privilegium bestimmter Rassen angesehen wurden. In der angegebenen Weise behandelte Hefen gaben in der Praxis bisher nicht vorgekommene Ausbeuten an Alkohol.

Jörgensen und **Holm** (245) äussern sich sehr absprechend über das Effront'sche Verfahren und glauben, dass auf unserem gegenwärtigen Standpunkte auch nicht die geringste Veranlassung für die Praxis vorliegt Arbeiten dieser Art aufzunehmen. Zur Prüfung der Effront'schen Angaben machten die Verf. eine Reihe von Versuchen, in denen die Lösungen genau nach der Vorschrift mit 3, 5 und 8 g Fluoriden oder Flusssäure pro Liter behandelt und die Hefen mikroskopisch, auf Gyps- und Plattenkulturen untersucht und von letzteren auch in Würze übertragen wurden.

1. In einer aus einer Brennerei stammenden Hefemasse in der mikroskopisch nur schwierig Mycoderma nachzuweisen war, fand sich nach Anwendung des Effront'schen Verfahrens eine überaus starke Mycoderma-Entwickelung.

2. Eine reine Brennereihefe wurde mit Reinkulturen von Mycoderma und Bacterium aceti versetzt. Nach Behandlung mit Fluorammonium hatte sich Mycoderma stark vermehrt und B. aceti war noch kräftig genug, um sich in Würze und Würzegelatine entwickeln zu können. Bei einem anderen Versuch hatte sich B. aceti bedeutend ausgebreitet. In einem dritten Falle war eine reine Brauerei-Unterhefe mit sehr wenig Mycoderma versetzt, nach der Fluorbehandlung aber fast ganz von letzterer Art verdrängt worden.

3. Eine gute Brennereiheferasse wurde mit 20 % einer Brauerei-unterhefe versetzt; nach der zweiten Fluorbehandlung war die Brennereihefe von der Bierhefe völlig verdrängt. In einem anderen solchen Falle bestand die Hefemasse am Schluss zu 90 % aus Bierhefe.

4. Ebenso überwucherte eine in geringer Menge zugesetzte obergährige Bierhefe (S. cerevisiae I Hansen) eine Brennereihefe.

5. Die Bier-Unterhefe Carlsberg II wurde mit einer geringen Menge

des biertrübenden S. pastorianus III Hansen versetzt; letzterer hatte sich nach der Fluorbehandlung stark vermehrt und in einem Versuche war die Hefe Carlsberg II sogar fast ganz verschwunden. Auch in Gemischen mit Brennereihefe entwickelte sich S. pastorianus III nach Fluorbehandlung sehr stark. Diese Resultate waren nach den Verf. vorauszusehen, da ein Antiseptikum auf verschiedene Arten verschieden wirken wird. Von einer Ausdehnung der Anwendung der Fluorverbindungen über den gewöhnlichen Gebrauch von Antisepticis hinaus rathen die Verf. deshalb entschieden ab, wenn man nicht auf's Gerathewohl arbeiten will. Die Versuche haben aber sogar gezeigt, dass Arten, welche besonders Betriebsstörungen veranlassen können, wie Krankheitshefen, Mycoderma und Bier-Unterhefe in Brennerei-Oberhefe durch die Fluorbehandlung gerade begünstigt werden. Ausserdem geht aus anderen Versuchen der Verf. hervor, dass jede Mischung von Brennereihefen durch die Behandlung stark in ihrer Zusammensetzung verändert wird, ohne dass die besten Rassen die Oberhand gewinnen; ja es können praktisch gut bewährte Rassen ganz unterdrückt werden. Endlich haben sich die Fluorverbindungen dem gefährlichen Bacterium aceti gegenüber als wirkungslos erwiesen; diese Form war nach der Behandlung sogar in bedeutend grösserer Menge vorhanden.

Die Verf. können daher nicht stark genug hervorheben, dass die in dem Effront'schen Patente befürwortete Anwendung von Fluorverbindungen zur Reinigung und Conservirung der Hefe in der Praxis mit den grössten Gefahren verbunden ist.

Effront (236) weist die von Jörgensen und Holm an seinen Arbeiten geübte Kritik (vgl. vorstehendes Referat) entschieden zurück. Er glaubt, dass die Verf. bei Versuchen über die Einwirkung von Fluoriden auf Essigsäurebakterien nicht genügend auf das Medium, in dem die Versuche vorgenommen wurden, auf die Natur des Substrates, in dem das Versuchsmaterial vorkultivirt wurde und auf die Rasse des benutzten Organismus geachtet haben, trotzdem er gezeigt habe, wie sehr der Ausfall der Versuche von diesen Umständen abhinge. Mycoderma hat sich nach Verf. in Versuchen von Jörgensen und Holm nicht in Folge der Anwendung der Fluoride sondern in Folge der ungünstigen Veränderung der Gährungsbedingungen vermehrt. Gleichzeitig sollen Essig-, Butter- und Milchsäurebakterien in der Hefe vorhanden gewesen und unter dem Einfluss der Fluoride verschwunden sein, worüber Jörgensen und Holm schweigen. Dass man weiter nach den genannten Verf. in einem Gemisch zweier Heferassen eine zu Gunsten der anderen unterdrücken könne, habe Verf. selbst ja schon festgestellt, aber wenn Jörgensen und Holm hieraus folgern, dass die Fluoride die industriell guten Hefen zu Gunsten anderer weniger guter unterdrücken würden, so sei dies eine willkürliche leicht zu widerlegende Behauptung.

Unter voller Anerkennung der Verdienste Hansen's glaubt Effront,

dass wenn es auch in Zukunft gelingen werde Hefen auszuwählen, die die höchste Ausbeute an Alkohol geben, bis jetzt die Auswahl einer passenden Brennereiheferasse nicht geglückt sei. Während Jörgensen und Holm das Studium des Einflusses chemischer Agentien auf die Hefen für zwecklos halten, glaubt Verf. dass dadurch neue praktisch anwendbare Eigenschaften gefunden werden können, nachdem er nachgewiesen, dass die Flusssäure und ihre Salze die Hefeentwicklung nach Qualität und Quantität beeinflussen könne. Sein darauf gegründetes Verfahren habe in 800 Fabriken Eingang gefunden. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie.)

Jörgensen und **Holm** (246) weisen Effront's Widerspruch entschieden zurück; dieser habe ihre Resultate unrichtig dargestellt, an anderen Stellen, wie hinsichtlich der Essigbakterien haben seine Bemerkungen mit der von den Verf. untersuchten Frage nichts zu schaffen. Sie hätten die Frage der Anwendung der Flusssäure als Antiseptikum gar nicht untersucht sondern nur die in der Patentbeschreibung gegebene Anweisung zur Behandlung einer Hefemasse mit Flusssäure, wodurch eine Heferasse von ihren Krankheitshefen befreit werden sollte. Sie hätten bewiesen, dass die Hefe von ihren Krankheitskeimen durch die Behandlung mit Flusssäure nicht befreit wird und die Krankheitskeime sich sogar oft durch die Behandlung mit Flusssäure in sehr hohem Grade vermehren. Auch wenn diese gefährliche Wirkung nur in sehr vereinzelten Fällen nachzuweisen wäre, würde dadurch Effront's Verfahren unmöglich. Die praktischen Versuche mit günstigem Resultate hätten in dieser Beziehung keine Bedeutung. Bekanntlich lägen auch nicht wenig Berichte über ungünstige Resultate vor und die ganze Sache trage das Gepräge der Zufälligkeit. Effront stehe auf einem veralteten Standpunkt; nicht die chemische Behandlung einer unbekannten Mischung, deren Elemente bald in der einen, bald in der anderen Richtung von dem ausgewählten Stoffe beeinflusst würden, sondern die planmässige Auswahl der einzelnen Art nach Hansen könne die rationelle Arbeit in der Praxis sichern. Nach Hansen, Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie Heft II[1] arbeiten auch schon eine grosse Anzahl Fabriken mit nach seiner Methode ausgewählten Rassen.

Cluss (228) erörtert die Vortheile, welche die Anwendung von Reinhefe einerseits, von Fluorverbindungen andererseits für die Brennerei bietet. Bezüglich der Wirkung der letzteren auf die Krankheitshefen kommt er zu dem Schluss, dass nach Effront durch Fluorverbindungen die entschiedene Krankheitshefe Saccharomyces pastorianus I gegenüber einigen Kulturhefen unterdrückt oder weniger in der Entwicklung begünstigt wurde, dass aber nach den Untersuchungen in Jörgensen's Laboratorium (s. Ref. p. 165) umgekehrt Krankheitshefen gegenüber den Kulturhefen durch

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 136.

Fluorverbindungen begünstigt werden können. Eine zielbewusste Reinigung gemischter Hefe durch Flusssäure wäre demnach nur dann möglich, wenn man wüsste, dass alle darin enthaltenen wilden Hefen empfindlicher gegen Flusssäure seien als die Kulturhefen. Um dies entscheiden zu können ist die Kenntniss der Brennereihefen noch viel zu wenig entwickelt. Und selbst wenn es gelänge die wilden Hefen aus der Brennereihefe durch Flusssäure zu entfernen, bliebe dann noch ein Kulturhefengemisch unbekannter Zusammensetzung von unbekannten und variabeln Eigenschaften, welches nicht die Vortheile einer ausgewählten Reinhefe besitzen kann.

Andererseits findet Verf. aber, dass Delbrück mit Unrecht gewissermassen die Frage gestellt habe, ob durch die Anwendung der Flusssäure oder der Reinzuchthefe ein grösserer Vortheil in der Brennerei erzielt werde. Der Verf. glaubt vielmehr, dass auch neben der reinen Hefe die Flusssäure noch mit grossem Vortheil in der Brennerei angewandt werde, da trotz der reinen Hefe die in der Eigenart des Brennereibetriebes begründeten Ursachen der Ausbreitung von Bakterien, welche die Diastase und die Hefe schädigen, fortbestehen; auch die reine Hefe wird deshalb für die Unterstützung durch ein Antiseptikum dankbar sein, wie schon daraus hervorgeht, dass nach den bisherigen Erfahrungen auch bei Anwendung von Reinhefe die Säuerung des Hefengutes, die ja auch einen Schutz gegen andere Bakterien bewirken soll, nicht entbehrt werden kann. Die Anwendung von Reinhefe bietet Vortheile, die von der Flusssäure nicht bewirkt werden können und umgekehrt. Hinsichtlich der Frage der Einführung der in Rede stehenden beiden Neuerungen in die Praxis haben Versuche von Delbrück[1] nur gezeigt dass wenn Reinhefe oder Flusssäure eingeführt werden sollen erstere den grösseren Vortheil verspricht. Dies ist erklärlich, weil die Ursache unbefriedigenderer Gährungen oft nicht in den Bakterien sondern darin liegt, dass die gewöhnliche bisher verwendete Brennereihefe aus wenig gährkräftigen Hefearten besteht oder durch Krankheitshefen stark beeinträchtigt wird. Auf die Hefe als wichtigsten Faktor muss man sich sicher verlassen können und dies ist nur durch Reinhefe zu erreichen; die Einführung der letzteren ist daher als Bedingung sine qua non für einen rationellen Betrieb in allererster Linie zu befürworten.

In Bezug auf die zweite Frage aber ob auch bei Anwendung von Reinhefe die Flusssäure noch Vortheile bringt, hat Delbrück keine Versuche publicirt, dürfte, wie Verf. glaubt, aber einen wesentlichen Nutzen der Flusssäure neben der Reinhefe für ausgeschlossen halten. Verf. will dagegen, wie schon aus dem Obengesagten hervorgeht, jene Frage prinzipiell entschieden bejahen. Längere Versuche über diesen Punkt aus der Praxis liegen nur aus der Brennerei von Vezia, Kiderlen & Cie. in Bordeaux

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 154.

vor; diese gaben ein günstiges Resultat, Verf. will es aber schon deshalb unterlassen, dieses zu verallgemeinern, weil in einer in südlicherer Gegend arbeitenden Brennerei an und für sich schon ein günstigerer Boden für ein Antiseptikum ist. Die eigenen Versuche des Verf. gaben keine sehr prägnanten Resultate, weil sie — zu anderem Zweck angestellt — meist mit so günstigen Hefe- und Malzgaben angesetzt waren, dass für das Antiseptikum nichts zu thun übrig blieb. Das Gesammtergebniss derselben war aber folgendes: Bei den Versuchen mit sehr reichlichen, die günstigsten der Praxis manchmal noch übersteigenden Hefe- und Malzmengen und hohen Maischtemperaturen, bei denen überhaupt möglichst steril gearbeitet wurde, war mit den Fluorverbindungen keine höhere Alkoholausbeute aber meist eine gewisse Einschränkung der Säure zu erreichen. Ging man aber mit der Malz- und Hefegabe auf die Durchschnittsverhältnisse der Praxis oder unter diese herunter, so trat eine entsprechende Wirkung des Flusssäurezusatzes ein; niemals aber war der Unterschied so gross, wie bei früheren Versuchen ohne Reinhefe, denn immer ergab die Reinhefe selbst unter schwierigen Verhältnissen ein viel besseres Resultat, sowohl in Bezug auf die Alkoholausbeute wie auf die Säureeinschränkung, wie vorher die unreine gemischte Hefe. Die Versuche bewiesen also, wie die von Delbrück und Heinzelmann, den hohen Werth der Reinhefe zeigten aber andererseits, dass neben der Reinhefe die Flusssäure eine relativ geringere Wirkung zeigt und demnach im Betriebe einen mehr oder minder grossen direkten Vortheil verspricht, jedenfalls aber einen Regulator für einen sicheren Betrieb darstellt, wie ihn die Reinhefe allein bei der jetzigen Arbeitsweise der Brennerei nicht garantirt.

Die Frage der Rentabilität der Anwendung von Flusssäure neben Reinhefe lässt Verf. unberührt; es wäre dabei zu berücksichtigen, dass die Anwendung von Reinhefe geringe Kosten, die der Flusssäure aber hohe Patentgebühren mit sich führt.

Effront[1] hat bekanntlich schon hervorgehoben, dass die Fluorverbindungen ein sehr wirksames und einfaches Mittel wären, um Reinhefen im Betriebe reinzuerhalten. Verf. glaubt, dass in der Brennerei die Fluorverbindungen in dieser Richtung ausgezeichnet nutzbar gemacht werden können um die stetig fortgepflanzte Mutterhefe vor Ueberwucherung durch Bakterien zu schützen und er führt Versuche an, wonach Reinhefe mit 50 g pro Hektoliter Fluorammon versetzt sich mehrere Wochen lang im warmen Zimmer hielt, dann mikroskopisch sich als sehr rein erwies und eine ganz normale Gährung bewirkte, während die unbehandelte Controllprobe ganz von Bakterien überwuchert und unbrauchbar geworden war. Regelmässig hat auch ein kleiner Zusatz von Fluorammon oder Flusssäure

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 156.

die Mutterhefe in einem Zustand grösserer Reinheit von Bakterien erhalten.

Hinsichtlich der Abwehr von wilden Hefen ist dagegen nach den Arbeiten von Hansen und seiner Schule die Flusssäure kein sicheres Mittel, da sie Infektionen der Reinhefe durch fremde Hefen nicht sicher verhindert und als stimulirend wirkendes Agens gelegentlich auch die fremde Hefe überwuchern lassen kann. Aber der grosse Vorzug der Flusssäure als Antiseptikum, als welches sie für die Brennerei eine ganz andere Bedeutung hat als für die Brauerei, und als auf die Hefe stimulirend wirkender Körper, wiegt die eben erwähnte bedenkliche Seite derselben weit auf, zumal letztere weniger zur Geltung kommen wird, wenn erst ein genaueres Studium der Kultur- und wilden Hefen der Brennerei hinsichtlich ihres physiologischen Verhaltens gegenüber den Fluorverbindungen vorliegt.

Will (272) hat während mehrerer Monate alle eingesandten Hefen und Jungbierabsätze nach dem von Hansen vorgeschlagenen Verfahren in 10% Rohrzucker und 4% Weinsäure im Vergleich mit der bisherigen Methode auf wilde Hefen untersucht. Die Resultate beider Verfahren stimmen ziemlich gut überein, die Untersuchungszeit kann durch die Weinsäuremethode gekürzt werden. Mit Ausnahme von zwei Fällen gab die Weinsäuremethode schärfere Resultate. Die Beurtheilung des Ergebnisses nach dieser Methode bietet noch manche Schwierigkeiten, die aber wohl gehoben werden können. Sehr scharfe Resultate giebt die Weinsäuremethode in Bezug auf Saccharomyces apiculatus. Diese Form fand Verf. in den bisher von ihm untersuchten etwa 2500 Proben von Betriebshefen und Bier nur in sehr wenigen Fällen, die er einzeln anführt; auch Andere fanden S. apiculatus selten in Brauereihefen und Bieren. Mit Hülfe der Weinsäuremethode liess sich indessen in 57% der untersuchten Betriebshefen und Jungbiere S. apiculatus nachweisen und zwar manchmal schon nach 48 Stunden, einige Male aber erst nach Ueberführung des Bodensatzes der Weinsäure-Zuckerlösung in Würze. Der S. apiculatus ist also viel häufiger in untergährigen Brauereihefen als man bisher annahm; er wurde wohl übersehen, weil er unter ungünstigen Bedingungen nicht in der typischen Form erscheint.

Dass S. apiculatus einen Einfluss auf den Geschmack des Bieres hat ist nach gewissen Beobachtungen an spontan vergohrenen Bieren möglich. Ueber den Einfluss des S. apiculatus auf die Betriebshefe fand Hansen, dass wenn die genannte Form und untergährige Hefe sich gleichzeitig in Würze befinden die beiden Hefen sich gegenseitig schädigen, indem S. apiculatus, trotzdem er zurückgedrängt wird, die Vermehrung der Kulturhefe stark schädigt; im Lagerfass wird S. apiculatus nach Hansen unthätig bleiben.

Vielleicht verhält sich die in Rede stehende Form, wie Verf. aus einigen Beobachtungen schliesst, gegen verschiedene untergährige Hefen verschieden.

Will (273) hat in Rücksicht auf die Bedeutung von antiseptischen Mitteln für die Reinigung von solchen Stellen der Brauereigeräthschaften und Lokalitäten, wo mechanische Säuberungsmittel nicht genügend angreifen, und in Anbetracht der geringen über diesen Gegenstand vorliegenden Litteratur die Einwirkung einer Reihe von Substanzen auf Hefen untersucht, um ein Urtheil über den antiseptischen Werth dieser Substanzen zu gewinnen und zweitens den niedrigsten Konzentrationsgrad festzustellen, welcher selbst bei sehr kurzer Einwirkungsdauer für verhältnissmässig grosse Hefemengen noch tödtlich ist. Hierbei wurde zunächst nur eine im Verhältniss zum Volumen der angewandten Desinfektionsflüssigkeit grosse Hefemenge verwendet. Untersucht wurden in der ersten, hier mitgetheilten Versuchsreihe einige untergährige und eine obergährige Bierhefe im vegetativen Zustand. In einer zweiten Versuchsreihe wurden die in der ersten Reihe als sehr kräftig befundenen Antiseptika in ihrer Wirkung auf die zwei vom Verf. beschriebenen Arten wilder Hefe[1] und auf eine Mycoderma untersucht, während in einer dritten Reihe diejenigen Konzentrationsgrade der Antiseptica, welche die vegetativen Hefezellen getödtet hatten, in ihrer Wirkung auf die Sporen der Kulturhefen und wilden Hefen geprüft wurden.

Ausser Reinkulturen wurde auch Hefe aus dem Betrieb in steriler Würze nachgezüchtet verwendet.

Die Einwirkung der Antiseptika auf die Hefen wurde durch Bestimmung der Gährkraft gemessen; um die Hefe nach Beendigung des Versuchs möglichst schnell und vollständig der Einwirkung des Antiseptikums zu entziehen, wurde der Inhalt des Kölbchens in 2-3 Liter sterilen Wassers eingegossen, die Hefe dann auf Gypsplatten gebracht und dann die Gährkraftbestimmung vorgenommen. Meist wurden je 5 g gewaschener und auf Gyps abgetrockneter Hefe zu den Versuchen mit den Antisepticis verwandt. Um sicher zu konstatiren, ob eine Hefe abgetödtet war, wurde sie auch noch in Würze gebracht. Zu beachten ist, dass bei der angegebenen Versuchsanstellung die Hefe auch durch den Aufenthalt unter Wasser an Gährkraft verlor; ein solcher Verlust war schon recht erheblich, als die Hefe 1 Stunde unter Wasser war und in Versuchen mit einigen Desinfektionsmitteln setzte sich die Hefe so langsam ab, dass die Gährkraftbestimmung in einem Falle erst nach 6, in einem anderen erst nach 24 Stunden vorgenommen werden konnte.

Chlorkalklösung wirkte, auch wenn sie so verdünnt wurde, dass sie nur noch 0,2 % aktives Chlor enthielt noch sehr energisch auf Hefe ein. Fester Chlorkalk in dünner Schicht aufgestreut wirkt auch gut. Chlorwasser wirkt etwas langsamer, so dass das bei Anwendung von Chlorkalk frei werdende Chlor energischer wirkt als das schon in Freiheit befindliche.

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 231.

Aehnlich wie Chlorkalk von gleichem Chlorgehalt wirkt Eau de Javelle von alkalischer Reaktion.

Das doppeltschwefligsaure Natron kann selbst in sehr konzentrirter Lösung Hefe nicht tödten, da nur wenig schweflige Säure daraus frei wird, während im doppeltschwefligsauren Kalk die schweflige Säure theils frei, theils so lose gebunden ist, dass sie Hefe sehr energisch tödtet. Wird das Natriumsalz zum Streichen von Kellerwänden benutzt, so bildet es nach dem Uebergang in Sulfat einen sehr guten Nährboden für Schimmel u. s. w.

Eisenvitriol (10 $^0/_0$) und Eisenchlorid (15 $^0/_0$) ergaben keine brauchbaren Resultate. Kupfersulfat wirkt schon in 1 $^0/_0$ Lösung ziemlich energisch. Von Zinksulfat und Zinkchlorid ist keine durchgreifende Desinfektion zu erwarten, Zinkchlorid wirkt ziemlich stark gährungshemmend. Aluminiumsulfat und Alaun konnten selbst in 5 $^0/_0$ Lösung in 10 Minuten die Hefe nicht abtödten. 5 $^0/_0$ Sodalösung dürfte beim einfachen Waschen die Hefe nicht völlig tödten; wenn sie aber stundenlang mit der Hefe in höherer Temperatur in Berührung ist, dürfte ihr eine gewisse desinfizirende Kraft zukommen. Jedenfalls arbeitet sie dem Ausdämpfen sehr energisch vor Kaliumpermanganat bewährte seine hohe Desinfektionskraft und tödtete die Hefe schon in 0,8 $^0/_0$ Lösung in 1 Minute. Manganchlorür in verschiedenen Präparaten und 10 $^0/_0$ Lösung tödtete die Hefe nicht völlig.

Merkwürdig ist die Wirkung der Borsäure auf Hefe. Beim Uebergiessen angefeuchteter Hefe mit einer 7 $^0/_0$ Borsäurelösung hergestellt durch Auflösen von 7 g Borsäure in 100 cc einer 5 $^0/_0$ Boraxlösung ballt sich die Hefe zu traubigen Massen, wird rein weiss, setzt sich nach dem Schütteln sofort wieder und lösst sich leicht in grossen Stücken vom Gefässboden ab. Die Hefe knirscht dann beim Aufstreichen auf Gyps und lässt sich nach dem Abtrocknen leicht zerreiben und schwer zusammenkneten. 5 $^0/_0$ Boraxlösung bewirkt ähnliche Erscheinungen. Hefe wurde durch diese Lösung nicht getödtet. Borsaurer Kalk kann auch nicht als Desinfektionsmittel benutzt werden.

Bei Versuchen mit Benzoesäure wurden 1 g in 50 cc Alkohol gelöst und 100 cc Wasser zugefügt; bei weiterem Zusatz von Wasser tritt dann eine Ausscheidung der Benzoesäure ein. Eine solche Lösung tödtet in 5 Minuten Hefe nicht völlig, lässt aber wohl nur wenige Hefezellen am Leben. Eine Lösung von 2,5 g Benzoesäure in 500 cc Wasser wirkte nicht sehr intensiv; demnach hatte im ersteren Falle auch der Alkohol mitgewirkt. Eine fünfprozentige Lösung von Salicylsäure in gleichen Theilen Alkohol und Wasser vernichtete schon in einer Minute die Hefe. Oxalsäure in 10 $^0/_0$ Lösung zerstörte die Hefe schon nach 5 Minuten nahezu völlig. Kreolin tödtet auch in geringprozentigen Emulsionen (2-3 $^0/_0$) in 5-10 Minuten die Hefe völlig. Von gasförmiger, durch Verbrennen von Schwefel erzeugter schwefeliger Säure wurde Hefe in feuchtem und angetrocknetem Zustande

in Schichten von unter 1 mm Höhe sehr energisch zerstört, so dass dieser schwefligen Säure für den Brauereibetrieb ein hoher Desinfektionswerth zukommt.

Im Ganzen entsprechen nur wenige der untersuchten Substanzen der Forderung Hefe rasch und sicher auch in schwacher Konzentration abzutödten. Es sind dies Sublimat, Chlorkalk, alkalisch reagirende JAVELLE'sche Lauge, doppeltschwefligsaurer Kalk, sauer reagirendes Wismuthnitrat, Kaliumpermanganat, alkoholische Benzoesäure und Salicylsäurelösung sowie Kreolin. Die Verwendung von Sublimat in der Brauerei ist wegen seiner Giftigkeit ausgeschlossen, auch Benzoe- und Salicylsäure sind nicht zu gebrauchen; der Anwendung von Kreolin steht der lange haftende Geruch und die Schwierigkeit das Mittel wieder völlig zu entfernen entgegen. Kaliumpermanganat dürfte zu manchen Zwecken verwendbar sein, es müssen aber noch Erfahrungen darüber gesammelt werden, ob dieses Mittel wie auch eau de Javelle und Wismuthnitrat mit Vortheil gebraucht werden können, was Verf. einstweilen fraglich ist.

Dagegen entsprechen die in der Brauerei altbewährten Mittel Chlorkalk und doppeltschwefligsaurer Kalk allen Anforderungen; von letzterem Mittel können viel schwächere Lösungen wie üblich genommen werden und Chlorkalk wirkt nicht nur in der bisher verwendeten festen Form sondern auch in schwacher Lösung vorzüglich.

Später mitzutheilende Versuche über wilde Hefen und Mycoderma zeigen, dass eine Chlorkalklösung von nur 0,2 % aktivem Chlor in 2 Minuten auch diese Organismen tödtet und doppeltschwefligsaurer Kalk mit 2 g SO_2 im Liter ebenso wirkt. In der Praxis geht man besser nicht bis zu diesen schwächsten Lösungen herab; Chlorkalklösung mit 1 % aktivem Chlor hergestellt durch Uebergiessen von 3-3 ½ kg käuflichem Chlorkalk von 30-35 % aktivem Chlor mit 1 Hektoliter Wasser, Umrühren, Absitzenlassen und Abgiessen von dem nicht weiter zu verwendenden Bodensatz hat sich in der Praxis gut bewährt und ist besonders zur Reinigung von mit Hefe durchsetzten Brauereigeräthschaften zu empfehlen. Statt dessen kann auch eine Lösung von doppeltschwefligsaurem Kalk mit 10 g schwefliger Säure hergestellt durch Vermischen des käuflichen Produktes von 70-75 g schwefliger Säure mit dem sechsfachen Volum Wasser benutzt werden. Schimmel dagegen muss mehrere Stunden selbst mit Chlorkalklösungen von 5,5 % Chlor behandelt werden, während eine Lösung von doppeltschwefligsaurem Kalk mit 1,3 % schwefliger Säure in einer halben Stunde wirkt.

Bezüglich der zahlenmässigen Einzelheiten muss auf die der Arbeit beigegebene Tabelle verwiesen werden.

Gosio (240) untersucht im Hinblick auf die praktische Frage, ob die zum Heben des Bieres aus dem Keller benutzte Kohlensäure conservirend wirkt, den Einfluss der Kohlensäure auf Bier. Es zeigte sich, dass wenn

in Bier enthaltenden Kölbchen die Luft durch Kohlensäure verdrängt wird der Säuregehalt nicht steigt, nachdem das Bier mit Mischkulturen von Mycoderma vini und aceti, die durch spontane Infektion von an der Luft stehen gelassenem Bier erhalten waren, geimpft wurde, während an der Luft gehaltene Controllproben stark sauer wurden. Reinkulturen ergaben gleiche Resultate. Versuche im Grossen bestätigen dies und zeigten, dass Bier in Kohlensäureatmosphäre sich mehr als 4 Monate hielt. Andererseits wurden Mycoderma vini und aceti durch Milchsäure nicht gestört.

Ausserdem wurde Bier mit anderem Bier, welches an der Luft stehend in Fäulniss übergegangen war, geimpft. Es ergab sich, dass solches Bier in Kohlensäureatmosphäre nicht, wohl aber an der Luft nach Farbe, Geruch und Geschmack zu urtheilen in Fäulniss überging. (Nach Wochenschr. f. Brauerei.)

Lasché (252) prüfte die Tödtungstemperatur folgender Krankheitshefen: Mycoderma cerevisiae I-IV, rubrum, humuli, n. sp., Saccharomyces Jörgensenii Lasché zum Vergleich auch S. pastorianus I und III, ellipsoideus II Hansen, apiculatus, cerevisiae L und No. 25, d. h. eine stark und eine schwach vergährende Bierunterhefe[1]. Es zeigte sich, dass die beim Pasteurisiren des Bieres zur Anwendung kommenden Temperaturen von 60-65^{0} C genügen um alle diese Organismen zu tödten. Wenn trotzdem pasteurisirte Biere durch wilde Hefen und Mycoderma getrübt werden, ist dies Nachlässigkeit beim Pasteurisiren oder schlechten Korken zuzuschreiben. Die Versuche zeigen weiter, dass sauer reagirende Nährflüssigkeiten die Organismen stärker angreifen, als die alkalisch reagirenden. (Zymotechn. Centralbl.)

Lindner (256) empfiehlt Leitungen, Bottiche und Schläuche in der Brauerei durch heisses Wasser zu sterilisiren da Dampf unsichere Resultate giebt und die Schläuche angreift. Von chemischen Mitteln empfiehlt er nach Will (Ref. p. 173) doppeltschwefligsauren Kalk und Chlorkalk; nur ist darauf zu achten, ob ersterer nicht durch Zersetzung an Wirksamkeit verloren hat. Um im Betriebe den Erfolg solcher Sterilisirung leicht kontrolliren zu können empfiehlt er in einem Kölbchen mit Gummistopfen Wasser zu kochen, den Dampf durch eine Pipette in ein übergestülptes Reagensglas streichen zu lassen, mit dem Reagensglas dann die Würzeprobe zu nehmen und nun mit der Pipette in ein Petri'sches Schalenpaar pro Schale je 50 isolirte Tropfen zu bringen. Nach der Zahl der durch Organismenentwicklung trübe werdenden Tropfen kann man den Grad der Verunreinigung bestimmen, wenn das Volumen jener 100 Tropfen bekannt ist. In den Tropfen der unteren Schale bleiben die aus einzelnen Keimen erwachsenen Colonien einige Zeit isolirt, auch wenn in einem Tropfen mehrere Keime

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 142, 144 u. 159.

waren. Nach dem Aussehen der Colonien kann man oft schon beim ersten Anblick eine richtige Diagnose stellen. Nach einigen Tagen bilden wilde Hefen in jenen Tropfen auch reichlich Sporen. Bei Wasseruntersuchungen kann man in derselben Weise verfahren. Wenn man jene Tropfen eintrocknen lässt, so halten sich die darin vorhandenen Organismen Monate lang lebendig und können dann durch Zugabe von Wasser oder Würze zur Entwickelung gebracht werden.

Mechanische Reinigung der Bottiche genügt nicht; die dünne Wasserschicht am Boden enthält oft viel wilde Hefen und Bakterien; die Lederscheiben der Glockenventile am Boden der Gährbottiche enthalten oft fast Reinkulturen wilder Hefen, trotzdem sie von der Bodensatzhefe ganz umgeben sind. In der Versuchsbrauerei werden die Bottiche mit doppeltschwefligsaurem Kalk gebürstet und dadurch eine fast keimfreie Würze erzielt, so dass bis 20 cc Würze wochenlang klar bleiben.

Ravizza (259) findet, dass kleine Mengen Calciumsulfit in Most die Gährung nicht aufhalten und die Gährtemperatur nicht erniedrigen; erst sehr grosse Mengen von Kaliumbisulfit und noch grössere des Calciumsalzes hemmen die Gährung; man kann daher die Salze zur Mässigung der alkoholischen Gährung in südlichen Ländern nicht brauchen, weil durch den zur Erzielung einer Wirkung nöthigen grossen Salzzusatz die Zusammensetzung der Gährflüssigkeit verschlechtert wird. Verf. benutzte 0,15-1,2 g Calciumsulfit, 0,15-0,5 g Kaliumpyrosulfit pro Liter Most. (Nach Wochenschr. f. Brauerei.)

b) Milchsäuregährungen, Käsegährungen und andere Gährungen in Milch.

275. **Adametz, L.,** Kritische Bemerkungen über F. Baumann's Beiträge zur Erforschung der Käsereifung (Deutsche Molkereizeitung 1893, No. 16). — (S. 213)

276. **Adametz, L.,** Ueber die Ursachen und die Erreger der abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse. D. Das Blähen oder Gähren der Käse (Milchzeitung 1893, No. 12).

277. **Adametz, L.,** Ueber die Ursachen und Erreger der abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse. (Lösung der von der k. k. Landwirthschaftsgesellschaft in Wien gelegentlich der allgemeinen land- und forstwirthschaftlichen Ausstellung zu Wien 1890 aufgestellten Preisfrage No. 9) Mit 6 Ill. Erweiterter Separat-Abdruck aus der Milchzeitung. Bremen 1893, Heinsius. 70 pp. — (S. 205)

278. **Arata,** Ueber die Veränderungen, denen die flüchtigen Säuren der Butter beim Ranzigwerden derselben unterworfen sind und über die Wirkung der ranzigen Butter auf den Organismus (Annalen des Inst. f. Experimentalhygiene in Rom 1893). — (S. 181)

279. **Auerbach, N.,** Ueber Produktion von Kindermilch und Milchsterilisirung (Berliner klin. Wochenschr. Bd. XXX, p. 340). —(S. 196)

280. **Baumann,** Beiträge zur Erforschung der Käsereifung (Landwirthsch. Versuchstationen Bd. XLII, 1893, p. 181). — (S. 209)

281. **Bleisch, M.,** Ueber bittere Milch und die Sterilisirung der Milch durch Erhitzen unter Luftabschluss (Zeitschr. f. Hygiene Bd. XIII, 1893, p. 81). — (S. 182)

282. **Bochicchio, N.,** La maturazione dei formaggi dal punto di vista batteriologigo. 7 pp. Portici 1893, Stabilimento Tipografico Vesuviano. — (S. 213)

283. **Cassedebat, P.,** Sur les altérations du lait concentré (Revue d'hygiène t. XIV, no. 9). — (S. 205)

284. **Chassevant, A.,** et **Ch. Richet,** De l'influence des poisons minéraux sur la fermentation lactique (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, 1893, p. 673). — (S. 186)

285. **Conn, H. W.,** Bacteria in the Dairy. V. The Ripening of Cream by Artificial Cultures of Bacteria (Sixth Annual Report of the Storr's Agricultural Experiment Station 1893). — (S. 181)

286. **Duclaux, E.,** Sur le rôle protecteur des microbes dans la crème et les fromages (Annales de l'Inst. Pasteur t. VII, 1893, p. 304). — (S. 208)

287. **Duclaux, E.,** Principes de laiterie [Encyclopédie agricole et horticole publiée sous la direction de M. C. Lechalas] 301 pp. Paris 1893, Colin & Cie. — (S. 178)

288. **Flaack, K.,** Ueber Milchsterilisirung (Milchzeitung Bd. XXII, p. 119). — (S. 200)

289. **Fraenkel, C.,** Ein neues Verfahren der Milchsterilisirung (Hygien. Rundschau 1893, p. 621). — (S. 199)

290. **Frankland, P.,** and **J. MacGregor,** Sarcolactic acid obtained by the fermentation of inactive lactic acid. (Transactions of the Chemical Society 1893). — (S. 192)

291. **Freeman, R. G.,** Sterilization of milk at 75° C [pasteurization] and its efficiency in destroying pathogenic organisms (Med. Record 1893, p. 709).

292. **Freudenreich, E. von,** Ueber einige Versuche die Blähung der Käse zu verhindern (Landwirthsch. Jahrbuch d. Schweiz Bd. VII, 1893, p. 81). — (S. 206)

293. **Gernhardt, E.,** Quantitative Spaltpilzuntersuchungen der Milch [Dissert.]. 78 pp. Dorpat 1893, Karow. — (S. 180)

294. **Hesse,** Ueber Milchsterilisirung im Grossbetriebe (Zeitschr. f. Hygiene Bd. XIII, 1893, p. 42). — (S. 198)

295. **Knochenstiern, H.,** Ueber den Keimgehalt der Dorpater Markt-

milch nebst einigen bakteriologischen Untersuchungen von Frauenmilch [Dissert.]. Dorpat 1893. — (S. 180)

296. **Krueger, R.,** Die Konservirungsmittel und ihre Bedeutung für den Molkereibetrieb (Molkereizeitung 1892, No. 54). — (S. 202)

297. **Lang M.,** und **E. von Freudenreich,** Ueber Oidium lactis (Landwirthsch. Jahrbuch der Schweiz Bd. VII, 1893, p. 229). — (S. 184)

298. **Langermann,** Untersuchungen über den Bakteriengehalt von auf verschiedene Art und Weise zur Kinderernährung sterilisirter und verschiedentlich aufbewahrter Nahrung zugleich mit den Ergebnissen über ihr Verhalten im Magen selbst (Jahrb. f. Kinderheilkunde Bd. XXXV, 1893, p. 88). — (S. 197)

299. **Legay,** Milchsterilisator (Milchzeitung Bd. XXII, p. 360). — (S 197)

300. **Marpmann, G.,** Käsegährung und Käsepilze (Pharm. Centralhalle Bd. XXXIV, p. 76).

301. **Martiny, B.,** Das Verarbeiten erhitzter Milch (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene Bd. III, p. 9). — (S. 201)

302. **Martiny, B.,** Ueberwachung der Marktmilch (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene 1893, p. 191).

303. **Neumann, J.,** Ueber die Konservirung der Milch durch Kaliumbichromat, Ammoniak und Ammoniakverbindungen (Milchzeitung 1893, No. 28). — (S. 202)

304. **Niederstadt,** Ueber die Wirkung des Zentrifugirens auf die Vertheilung der Bakterien in der Milch (Zeitschr. f. Nahrungsmitteluntersuchung u. Hygiene Bd. VII, p. 3). — (S. 205)

305. **Pauly,** Zur Beschaffung sterilisirter Milch (Deutsche med. Wochenschr. 1893, No. 18). — (S. 197)

306. **Péré, A.,** Sur la formation des acides lactiques isomériques par l'action des microbes sur les substances hydrocarbonées (Annales de l'Institut Pasteur t. VII, 1893, p. 737). — (S. 187)

307. **Popp** und **Becker,** Ueber die Verarbeitung erhitzter Milch in den Molkereien (Hygien. Rundschau 1893, p. 530). — (S. 201)

308. **Renk, F.,** Ueber Fettausscheidung aus sterilisirter Milch (Archiv f. Hygiene Bd. XVII, 1893, p. 312). — (S. 200)

309. **Roger, H.,** Action de la bactéridie charbonneuse sur le lait (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 309). — (S. 183)

310. **Roger, H.,** Action du Bacillus septicus putidus sur le lait (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 707). — (S. 183)

311. **Rouvier, J.,** Le lait. Caractères dans l'état de santé et de maladie. Altérations et falsifications. Germes de maladies. Microorganismes du lait. 12°. 41 fig. Paris 1893, Baillière.

312. **Schuppan, P.,** Milchwirthschaftsbetrieb und Molkereiprodukte im Lichte der Bakteriologie (Pharm. Centralhalle 1893, p. 649).

313. **Schuppan, P.,** Die Bakteriologie in ihrer Beziehung zur Milchwirthschaft (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 527). — (S 179)
314. **Stutzer, A.,** Untersuchungen auf dem Gebiete der Milchkonservirung (Bericht über die Thätigkeit der landwirthsch. Versuchstation zu Bonn im Jahre 1893). — (S. 200)
315. **Tate, G.,** The Fermentation of Dextrose, Rhamnose and Mannitol by a Laevolactic Ferment (Journal of the Chemical Society, Transactions t. LXIII, p. 1263). — (S. 191)
316. **Timpe, H.,** Ueber die Beziehungen der Phosphate und des Kaseins zur Milchsäuregährung (Archiv f. Hygiene Bd. XVIII, 1893, p. 1). — (S. 193)
317. **Weigmann, H.,** Ueber seifige Milch und über die Herkunft der Bakterien in der Milch (Milchzeitung 1893, p. 569).
318. **West, S. L.,** Sterilization and subsequent protection of milk (Times and Register 1893, p. 839).
319. **Wurtz, R.,** et **R. Leudet,** Note sur l'identité du bacille lactique de Pasteur avec le Bacillus lactis aërogenes (Comptes rendus de la soc. de biologie 1893, p. 531). — (S. 196)
320. **Wurtz, R.,** et **R. Leudet,** Recherches sur l'action pathogène du bacille lactique (Archives de méd. expér. et d'anat. path. t. III, no. 4). — (S. 196)

Verschiedenes.

Duclaux (287) findet, dass die bisher über Molkereiwesen erschienenen Bücher die Bedeutung der in dieser Industrie herrschenden Mikroorganismen gar nicht oder zu wenig erwähnen. Der Verf. will dieses Unrecht gut machen und in diesem Buche zeigen, wie die Mikroorganismen selbst diejenigen Manipulationen des Molkereibetriebes, mit denen sie scheinbar Nichts zu thun haben, beherrschen. Der Schlusssatz der Vorrede dieses Buches wird jedem aufrichtigen Vertreter der Wissenschaft, der sich aus Beruf oder Neigung die Fragen für seine wissenschaftlichen Arbeiten von der Praxis stellen lässt, aus der Seele gesprochen sein: La science et l'industrie sont deux ignorantes qui font bien d'aller ensemble à l'école mutuelle.

Das Inhaltsverzeichniss zeigt folgende Hauptabschnitte: Physikalische und chemische Konstitution der Milch, Mikroorganismen der Milch, einige Gährungserscheinungen im Besonderen, Milchanalyse, Behandlung der Handelsmilch, natürliche Aufrahmung und die durch Centrifugen, das Buttern, Butter, Hauptprinzipien der Käsefabrikation, Käsesorten, Hartkäse, Weichkäse.

Für die Fülle des Interessanten, welche dieses Buch bietet und die Eleganz der Form, in der es geschrieben, bürgt der Name des Verfassers.

Schuppan (313) theilt einige seiner Erfahrungen als Bakteriologe der bekannten Bolle'schen grossen Meierei in Berlin mit. Bei Untersuchung der von den einzelnen Gütern eingelieferten Milch fand Verf. ähnliche Zahlen für den Bakteriengehalt wie Cnopf und Escherich nämlich 200000-6 Millionen, durchschnittlich über 1 Million pro cc 5-6 Stunden nach dem Melken. Milch aus Wirthschaften, die zur Gewinnung von Kindermilch besonders fütterten zeigte niedrigeren Bakteriengehalt z. B. in 113 Untersuchungen in 4 Monaten von Anfang Juli ab 383230. Die bakteriologische Kontrolle des Betriebes der liefernden Wirthschaften ist werthvoll. So machte erst ein plötzliches Ansteigen des Bakteriengehaltes der Milch eines Gutes auf eine Verstopfung des Wasserzuflusses eines Milchkühlers aufmerksam und wurde unter den mehr als 100 liefernden Ortschaften bei dem Auftreten von blauer Milch das Gehöft herausgefunden, welches die Infektion verursachte.

Verf. giebt auch einige Zahlen bezüglich des Werthes der Kühlung für die Haltbarkeit der Milch. Dieselbe wurde auf 8, resp. 10,5 und 11° C gekühlt und zeigte dann nach Aufenthalt in Zimmertemperatur in einem Falle 30-32000, im anderen 61-65000 Keime. Bei der Bestimmung des Bakteriengehaltes verdünnt Verf. 0,5 cc Milch in 100 cc Wasser und bringt 0,2 cc der Verdünnung auf die Gelatine. Bezüglich sterilisirter Milch beobachtete Verf., dass Milch, die $1^3/_4$ Stunde auf 102° erhitzt war nach etwa 50tägigem Aufenthalt im Brutschrank umschlug und Bakterien enthielt; er scheint anzunehmen, dass letztere sich erst nach so langer Zeit in der Milch entwickelt und nicht neu von aussen hineingekommen seien.

Um Milch von Schmutz und Bakterien zu befreien benutzte die Bolle-sche Meierei seit Jahren Schwammfilter d. h. Blechcylinder, in denen Schwämme liegen, durch die die Milch von unten her durchtritt. Verf. zeigt, dass die einmal benutzten Schwämme eine Masse Bakterien enthalten. Wegen der umständlichen Reinigung der Schwämme führte die Meierei die in Kopenhagen schon in Gebrauch befindlichen Kiesfilter ein d. h. 70 cm hohe konische Gefässe mit einem unteren Durchmesser von 45 und einem oberen von 55 cm. In demselben sind 3 Siebsätze von 10 cm Höhe durch Gummi gegen die Gefässwand abgedichtet; auf diese kommt Kies und zwar der gröbste auf das unterste. Ueber dem obersten Sieb sind noch Tücher behufs Zurückhaltung der emporgerissenen Kiestheile gespannt. Proben zeigten eine Verminderung des Fettgehaltes der durch Kies filtrirten Milch von 3,40 auf 3,34 % und eine solche des Aschengehaltes von 0,759 auf 0,740 %. Der Bakteriengehalt verminderte sich durch die Kiesfiltration in Kopenhagen um 48,6, ein anderes Mal um 38 %. Der Kies wird nach jedem Gebrauch mit Wasser, Natronlauge und Salzsäure gewaschen, trocken sterilisirt und von Staub befreit. Die Leistungsfähigkeit des benutzten Filters beträgt 4000 Liter, die in einer Stunde passiren. Wegen

der Möglichkeit einer Choleraepidemie in Berlin wurden Versuche mit Butter- und Käsebereitung aus sterilisirtem Material gemacht und Süssrahmbutter aus bei 83 resp. 100,5° C bakterienfrei gemachtem Rahm gewonnen, die gut wenn auch etwas verschieden von der gewöhnlichen schmeckte. Es liess sich auch die Möglichkeit der Herstellung einer bestimmten Käsesorte aus Milch, in der wenigstens die pathogenen Bakterien abgetödtet waren, zeigen. Kefyr konnte aus sterilisirter Milch mit aus Kefyrkörnern rein kultivirten Organismen bereitet werden.

Knochenstiern (295) fand selbst in der keimärmsten Dorpater Marktmilch, die aus grösseren Milchwirthschaften stammte, wo die Milch sofort nach dem Melken sorgfältig behandelt wurde, bis zu 1 Million Bakterien im cc. (Chem. Centralbl.)

Gernhardt (293) untersucht den Bakteriengehalt der Dorpater Milch und findet ihn im Mittel wie folgt:

Guts-Meiereien	2 322 103
Städtische „	5 506 601
Dorfmilch I	9 670 873
„ II	11 274 703
Marktmilch	39 990 850

Die Dorfmilch wird von Bauern an feste Kunden abgesetzt, die Marktmilch von Bauern offen auf dem Markte verkauft. Der Keimgehalt ist im Allgemeinen proportional der angewandten Vorsicht und Reinlichkeit. Im Grossen und Ganzen nimmt Dorpat hinsichtlich der Reinheit der Milch eine mittlere Stellung zwischen den übrigen untersuchten Städten ein.

Der Verf. beschreibt auch die Stallverhältnisse einiger Güter und diskutirt die Bedeutung verschiedener Manipulationen und Einrichtungen hinsichtlich der Stauberzeugung und Verunreinigung der Milch; dahin gehört Lagern von Futter über dem Stall, Futtern während des Melkens, hölzerne oder metallene Geschirre, Art der Seihtücher. Hinsichtlich der Herkunft der Milchbakterien findet auch er die zuerst ausgemolkene Milch eines Euters bakterienreich, die letzte sehr bakterienarm, die Durchschnittsmilch aber bei weitem am bakterienreichsten und deshalb hält er dafür, dass die Mehrzahl der Milchbakterien aus der Aussenwelt stamme. Er sucht auch rechnerisch festzustellen, wie viel °/₀ der Keime in den einzelnen Milchsorten ursprünglich darin waren und wie viele aus der Aussenwelt hineinkamen; er benutzt dazu die gefundene Menge der in den Strichen vorhandenen Bakterien, die er bei allen Milchsorten als gleich annimmt und die mittlere Vermehrungsgeschwindigkeit der Bakterien. Der Ueberschuss über die so berechnete Zahl, den die in der Handelsmilch gefundene Bakterienmenge aufweist kommt auf Rechnung der von aussen in die Milch gelangten Bakterien. Er findet in °/₀

	Ursprüngliche Keime	Von aussen stammende Keime
Gut I	2,8	97
Gut II	20	80
Meierei I	20	80
Meierei II	über 8	91-92
Dorf I	7	93
Dorf II	5	95
Markt	1-1,5	99

Bei Untersuchung der aus der Centrifuge laufenden Milch fand er schliesslich, dass die Milch durchschnittlich die Hälfte ihrer Bakterien durch das Centrifugiren verliert, während der Keimgehalt des Rahmes auf das 4-5fache stieg. Er fand also auch eine Bakterienanreicherung des Rahmes.

Conn (285) wurde von der Office of Experiment Stations at Washington veranlasst Versuche über Butterbereitung mit Bakterienreinkulturen auf der Chicagoer Weltausstellung auszustellen, um die Meiereifachleute mehr mit dieser Neuerung bekannt zu machen. Zu dem Zwecke isolirte Verf. einerseits aus dem zum Buttern fertigen Rahm verschiedener guter Molkereien, andererseits aus Wasser 20 Bakterienspezies und prüfte deren Wirkung auf pasteurisirten Rahm. Nur 3 jener Bakterienformen gaben schlechte, bittere Butter, alle anderen ertheilten der Butter einen guten, einige einen ausgezeichneten Geschmack. Dass nicht mehr schlechte Formen gefunden wurden, ist darauf zurückzuführen, dass das Material meist aus guten Molkereien stammte, für die Praxis geht aber daraus hervor, dass die meisten der in normal gereiftem Rahm sich findenden Formen gute Butter geben. Auffallend war, dass auch die beste mit Reinkulturen hergestellte Butter einen etwas anderen Geschmack wie normal gereifte hatte. Verf. hat Versuche darüber im Gange, ob dies darauf zurückzuführen ist, dass mehrere Spezies nebeneinander im spontan normal reifenden Rahm arbeiten.

Die Geschmacksunterschiede traten viel deutlicher in der nicht ausgewaschenen Butter hervor, wodurch wieder bestätigt wurde, dass die Aromabildung auf einer Einwirkung auf Buttermilchbestandtheile beruht. Auffallenderweise findet Verf., dass die meisten der von ihm untersuchten Bakterien alkalische Reaktion hervorbringen und dass diese bessere Butter geben, wie die säurebildenden.

Arata (278) findet, dass beim Ranzigwerden der Butter, welches in einer Spaltung der Glyceride in Glycerin und Fettsäuren und fortschreitender Oxydation der letzteren zu einer Reihe flüchtiger Säuren besteht, hauptsächlich das Licht, weniger Temperatur und Unreinigkeiten von Wichtigkeit sind; Bakterien sind nur höchst unbedeutend betheiligt. (Hygien. Rundschau.)

Bleisch (281) erhielt einige Flaschen von nach NEUHAUSS, GRONWALD und OEHLMANN sterilisirter Milch, die abnorm transparent und leicht gelblich aussah und intensiv bitter schmeckte. Die Milch stammte aus verschiedenen Quellen und war zu verschiedener Zeit in der Molkerei sterilisirt. Bei lebhaftem Betrieb war das Bitterwerden besonders häufig.

Verf. isolirte aus der bitteren Milch eine Bakterienform, welche auf Platten wuchs und sterile Milch bei Einimpfung bitter machte. Die Form stellt kurze oder bei niedriger Temperatur längere, dicke Stäbchen dar, die sich wurmartig bohrend bewegen, Geisseln besitzen und in allen Substraten mit Ausnahme von Blutserum und Milch auch schon bei 25° Sporen unter schwach spindelförmiger Auftreibung des Stäbchens bilden. Die Form wuchs bei Sauerstoffgegenwart, wie auch in Eiern oder tief in Gelatine; letztere wird verflüssigt. Sterilisirte und dann geimpfte, bei niedriger Zimmertemperatur unter Watteverschluss gehaltene Milch zeigte in der ersten Woche nur schwach sauere Reaktion, sonst keine Veränderung. Von der zweiten Woche an bildete sich unter der Rahmschicht ein leicht gelblicher transparenter Streifen, während der Rest der Milch labähnlich gerann. Später schwand der geronnene Theil, bis schliesslich nur noch geringe Reste des Caseïns am Boden lagen. Vom Ende der zweiten Woche an zeigte die Milch intensiv bitteren Geschmack, war geruchlos, schwach sauer. Das Filtrat gab mit Alkohol reichlichen Niederschlag und starke Biuretreaktion. Bei 34° gingen die Veränderungen schneller vor sich, bitterer Geschmack war schon nach 24 Stunden vorhanden.

Trockne Hitze von 160° genügte nach halbstündiger Einwirkung, um angetrocknetes sporenhaltiges Material zu tödten. An Seidenfäden angetrocknete und dann in steriler Milch bis zu 6 Stunden bei 100° gehaltene Sporen waren dagegen nicht todt. Der Verf. untersucht weiter, ob die Entfernung der Luft aus den Milchflaschen, wie sie bei dem SOXHLET'schen Verfahren und bei dem nach NEUHAUSS, GRONWALD und OEHLMANN geschieht, wesentlichen Einfluss auf die Haltbarkeit der mit seinem Bacillus geimpften, dann sterilisirten Milch hat. Er versetzte sterilisirte Milch in SOXHLET-Flaschen mit bestimmten gleichen Mengen seines Bacillus, verschloss die Flaschen theils mit Watte, theils mit Gummiplatten und sterilisirte verschieden lange Zeit bei 100°. Das verwendete Bakterienmaterial hatte übrigens durch die fortgesetzte Kultur erheblich an Resistenz eingebüsst. Er findet, dass die bei Luftabschluss erhitzten Flaschen stets etwas später umschlugen, wie die unter Watte erhitzten und dass weiter dies nur auf eine durch Sauerstoffmangel bedingte Hemmung der Entwickelung der Bakterien zurückzuführen ist und nicht auf eine direkte Erleichterung der Abtödtung der Keime durch den Luftabschluss. Er folgert dies hauptsächlich daraus, dass in einer Versuchsreihe die unter Luftabschluss erhitzten Flaschen mehr Keime enthielten, wie die anderen. Einige Zeit nach Schluss

der Sterilisirung ausgeführte Zählungen hätten seine Annahme erst sicher bewiesen.

Roger (309) zeigt, dass Milzbrandbacillen Milch verschieden verändern je nachdem die Luft viel oder wenig Zutritt hat. Im Reagensröhrchen coagulirt die Milch unter dem Einfluss der Milzbrandbacillen und über dem Coagulum steht ein klares, ungefärbtes Serum. Dagegen coagulirt die Milch, wenn sie sich in weniger als 4 cm hoher Schicht in Kolben befindet nicht sondern verwandelt sich in eine trübe gelbbraune Flüssigkeit, erhöht man die Flüssigkeitsschicht etwas, so coagulirt die Milch in den unteren Schichten.

Die Gerinnung des Caseïns wird durch den Bacillus anthracis mit Hülfe eines Labfermentes, nicht durch eine gebildete Säure bewirkt; er macht im Gegentheil die Milch alkalisch. Die Anwesenheit des Fermentes wird dadurch bewiesen, dass das Filtrat einer coagulirten mit Naphtol B als Antiseptikum versetzten Milchkultur frische Milch coagulirt. Die Coagulation der unter reichlichem Luftzutritt stehenden Kulturen unterbleibt nicht, weil hier kein Ferment gebildet wird; es ist vielmehr auf die eben erwähnte Weise auch in solchen Kulturen nachzuweisen und wirkt seinerseits auf frische Milch auch bei Luftzutritt. Man kann andererseits nicht annehmen, dass das Caseïn in den Milzbrandkulturen durch eine Casease so verändert wird, dass es nicht mehr coaguliren kann. Denn diese Casease würde auch bei dem Naphtolversuch in die frische Milch mit übertragen werden. Vielmehr muss man schliessen, dass bei reichlichem Luftzutritt der Bacillus anthracis sich lebhafter entwickelt und das Caseïn, indem er es zu seiner Ernährung benutzt so verändert, dass es nicht mehr coagulirt. Die Flüssigkeit enthält thatsächlich nur Spuren von durch Essigsäure abscheidbarem Caseïn.

Roger (310) berichtet, dass auch der von ihm (Comptes rendus de la soc. de biologie 29. octobre 1892) beschriebene Bacillus septicus putidus die Milch je nach dem Luftzutritt in verschiedener Weise verändert. Wenn die Milch sich in engen Röhren befindet coagulirt sie ohne sauer zu werden unter dem Einfluss eines von dem Bacillus ausgeschiedenen Fermentes und das Coagulum verschwindet nur ganz langsam; das in mässiger Menge sich ausscheidende Serum ist ungefärbt und geruchlos. Befindet sich aber die Milch in flacher, etwa 1 cm hoher Schicht in einem Erlenmeyer'schen Kolben so coagulirt sie überhaupt nicht, sondern es bildet sich in ihr eine unvollkommen filtrirende Masse und die Flüssigkeit wird chokoladebraun und stinkt sehr; Essigsäure giebt in solcher Flüssigkeit keinen Niederschlag, sie enthält also kein Caseïn. Dass bei diesem Unterschied nur der Luftzutritt wirkt beweist der Umstand, dass durch Ueberdecken der Milch mit Oel in jedem Gefäss Coagulation erzielt wird. Folgende Zahlen geben in g die Menge der beim Filtriren der Kulturen auf dem Filter zurückgebliebenen Substanz nach dem Trocknen pro 100 cc Milch

	Alter der Kultur 48 Stunden	1 Monat
Grosser ERLENMEYER-Kolben	0.868	0.788
Kleiner „ „	1.662	0.981
Rohr	3.859	2.138
Kultur unter Oel	4.028	2.872
Frische Milch (Caseïngehalt)	4.188	

Man beobachtet also hier dieselben Verhältnisse nur schärfer wie beim Milzbrand (Vorst. Referat). Beide Formen bilden das erwähnte coagulirende Ferment auch in den weiten Kolben in grosser Menge. Die Coagulation unterbleibt also nicht wegen Abwesenheit des Fermentes sondern weil das Caseïn eine Veränderung erlitten hat, die sehr schnell vor sich geht da schon nach 24-48 Stunden in der Milch mit Essigsäure nichts mehr fällt. In Bouillon wird nur sehr wenig Ferment gebildet.

Lang und **Freudenreich** (297) beschreiben, wie das auf saurer Milch häufig als Haut auftretende Oidium lactis in Gelatine erst Längenwachsthum der Hyphen, dann Zerfall aller Hyphen nicht nur der Seitenzweige in kurze Glieder oder Oidien zeigt. Bei der Keimung zieht sich das Ende der Oidie einfach in eine Hyphe aus, ohne dass von einer durchbrochenen Sporenmembran etwas zu sehen ist.

Feste Nährböden überzieht das Oidium mit dünnem, grauweissem Pilzgeflecht, auf Brot und Kartoffeln ist der Rasen mehr weisslich, Gelatine wird nur oberflächlich verflüssigt; auf sterilisirtem Casein entsteht wie auf Milch ein dicker, gelblicher Ueberzug. In Bouillon mit oder ohne Zusatz von Milchzucker, Rohrzucker, Traubenzucker oder Maltose, wie in Würze wächst das Oidium und zwar immer sowohl untergetaucht, wie oberflächlich. Bei Luftabschluss wächst der Pilz nicht ganz so stark wie bei Luftzutritt; in Bouillon oder Milch in Wasserstoffatmosphäre war das Wachsthum aber fast normal; der Pilz gedeiht bei Zimmertemperatur und Brutwärme, wächst aber nicht bei 42°, ohne jedoch dadurch getödtet zu werden. Saure Reaktion des Substrates, wie sie z. B. entsteht, wenn man zu 10 ccm zuckerhaltiger Bouillon 5-10 Tropfen 25 % Milchsäure zusetzt, ist dem Pilze angenehmer. Deshalb wächst er auch so häufig spontan auf saurer Milch.

Hinsichtlich der Einwirkung höherer Temperaturen und von Desinfektionsmitteln auf Oidium lactis fanden die Verf., dass es bei 60° etwa abstirbt. Karbolsäure $2^1/_2$ % in Bouillon tödtet Oidium nach 30 Sekunden. Gegen Sublimat war Oidium ziemlich widerstandsfähig, denn in Bouillonkulturen oder Aufschwemmung von Brotkulturen wirkte $^1/_2$ ‰ Sublimat auch nach 10 Minuten nicht sicher tödtend, 1 ‰ Sublimat verlangsamte das Wachsthum nach 5 Minuten, tödtete in 10 Minuten; 1 ‰ Sublimat tödtete dagegen Oidium in 30 Sekunden, wenn Fliesspapier mit Bouillonkulturen befeuchtet wurde. Die Verf. halten deshalb dafür dass in den

Kulturen und selbst in den wässerigen Aufschwemmungen Produkte enthalten sind, die das Sublimat unwirksam machen; das Sublimat wirkte schneller, wenn das Oidium auf Fliesspapierstreifen sich befand, weil hier die kleinen Papierstreifen in eine grössere Menge des Desinfiziens getaucht wurden, während im anderen Falle gleiche Mengen Desinfiziens und Kulturflüssigkeit angewandt wurden. Jedenfalls ist Oidium gegen Sublimat unter Umständen ziemlich widerstandsfähig. $1\,^{0}/_{00}$ Formaldehyd verlangsamte in 30 Minuten nur das Wachsthum des Oidium und tödtete es in 18 Stunden, während es Staphylococcus pyogenes aureus nicht in 10, wohl aber in 30 Minuten tödtete. $^{1}/_{2000}$ Formaldehyd tödtete Oidium selbst in 18 Stunden nicht, verlangsamte aber das Wachsthum.

Hinsichtlich der Einwirkung des Oidium auf das Nährsubstrat fanden die Verf. bei Versuchen mit $2\,^{0}/_{0}$ Peptonbouillon und $5\,^{0}/_{0}$ Trauben-, Rohr-, Milchzucker oder Maltose, dass sowohl nach 10 Tagen wie nach 5 Wochen Alkohol und Kohlensäure ziemlich reichlich gebildet waren. In der Traubenzuckerkultur waren nach 10 Tagen 0,55, nach 5 Wochen 1 Vol $^{0}/_{0}$ Alkohol gebildet, in den Kulturen mit den anderen Zuckerarten war die Alkoholreaktion deutlich; der Zuckerverbrauch betrug in 10 Tagen bei Traubenzucker 20,64, bei Rohrzucker 12, bei Milchzucker $16\,^{0}/_{0}$, nach 5 Wochen bei Traubenzucker 48,4, bei Rohrzucker 12, bei Milchzucker 44,4; bei Maltose $18\,^{0}/_{0}$. Alle Kulturen standen bei Luftzutritt. Oidium vergährt also zum Unterschied von den meisten Gährungshefen auch Milchzucker. In den Milchzucker- und Maltosekulturen trat dabei auch ein deutlicher Weichkäsegeruch auf, wonach Oidium wohl auch auf Eiweissstoffe wirkt. Die Verf. kultivirten dasselbe daher auch in Milch und fanden, dass diese dabei schon nach wenigen Tagen einen deutlichen Geruch nach Weichkäse annimmt. Nach fünf bis sechs Monaten bildete sich eine mittlere gelbbraune sich klärende Zone, die auf Peptonisirung oder sonstige Veränderung des Caseins schliessen liess. Die chemische Untersuchung der Kulturen ergab Folgendes:

Peptonartige Körper mit Phosphorwolframsäure gefällt

	Alter der Kulturen 3 Wochen	6 Wochen	$5^{1}/_{2}$ Monat
Gesammteiweiss der Milch vor dem Versuch	$3{,}65\,^{0}/_{0}$	$4{,}36\,^{0}/_{0}$	$3{,}67\,^{0}/_{0}$
Gesammteiweiss der Milch nach dem Versuch	3,67	4,30	3,69
bestehend aus			
Caseïn unverändert	2,43	2,35	0,67
Peptonartige Eiweissstoffe und Albumin	0,55	1,47	1,60
Eiweisszersetzungsprodukte	0,52	0,43	1,35

Peptonartige Körper mit Gerbsäure gefällt

	Alter der Kulturen		
	3 Wochen	6 Wochen	$5^1/_2$ Monat
Gesammteiweiss d. Milch vor d. Versuch	3,65 $^0/_0$	4,36 $^0/_0$	3,67 $^0/_0$
„ „ „ nach „ „	3,67	4,30	3,69
bestehend aus			
Caseïn unverändert	2,47	2,38	0,67
Peptonartige Eiweissstoffe u. Albumin	0,51	1,42	1,40
Eiweisszersetzungsprodukte	0,57	0,46	1,52

Jede der drei Serien war dabei mit anderer Milch angesetzt. Demnach zersetzt Oidium lactis auch die eiweissartigen Stoffe; die Menge der peptonartigen Stoffe und der Eiweisszersetzungsprodukte nimmt in den obigen Versuchen derart mit der Zeit zu, dass nach noch längerer Zeit wohl alles Casein zersetzt gewesen wäre.

Milchsäuregährung.

Chassevant und **Richet** (284) untersuchten weiter[1] die Wirkung von Metallgiften auf die Milchsäuregährung. Sie unterscheiden die dose antigénétique, welche die Vermehrung der Milchsäurebakterien hindert und

	Dose antigénétique mol.	Dose antibiotique mol.
Magnesium	0.5	1.5
Lithium	0.25	0.5
Calcium	0.15	0.4
Strontium	0.125	0.25
Baryum	0.125	0.25
Aluminium	0.026	0.037
Mangan	0.0064	0.0085
Eisen	0.004	0.005
Blei	0.0036	0.0061
Zink	0.0025	0.0035
Kupfer	0.0015	0.0015
Cadmium	0.00085	0.0021
Platin	0.00025	0.00075
Quecksilber	0.000185	0.000185
Nickel	0.000125	0.000200
Gold	0.000080	0.000165
Cobalt	0.000065	0.000065

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 170 unter Richet.

die dose antibiotique, welche die Gährung aufhebt. Sie setzen dabei zu sterilisirtem Molken entweder soviel Molken, in dem sich reinkultivirte Milchsäurebakterien reichlich finden, dass eine Weitervermehrung der Bakterien in dem neuen Molken für die Gährung irrelevant ist oder nur ganz wenig von dem bakterienreichen Molken. So finden sie die beiden Dosen. Die Zahlen der vorstehenden Tabelle sind als Molekul (Mg_2, Li_2, etc) pro Liter Molken berechnet; angewendet wurden durchweg Chlorüre, nur beim Blei das Nitrat.

Die entwickelungshemmende Dosis ist also manchmal drei Mal so schwach, wie die gährungshemmende; in einigen Fällen sind beide Dosen gleich.

Péré (306) legt sich im Hinblick auf die neueren Erfahrungen über die Bildung verschieden optisch aktiver Milchsäuren durch Bakterien die Frage vor, welche Beziehungen zwischen der Molekularstruktur der Zuckerart und der daraus gebildeten Säure bestehen und ob dieselben nur von der Natur des Zuckers oder der der Bakterienart oder von beiden abhängt. In der vorliegenden Arbeit beschäftigt er sich vorzüglich mit den Beziehungen der Natur der Säure zu der der producirenden Bakterienart und den Bedingungen der Gährung.

Er verwendete 1) Bacillus typhi aus einer Typhusmilz 2) Bacterium coli commune l aus menschlichen Stühlen 3) Bacterium coli commune d, äusserlich mit dem vorhergehenden übereinstimmend, isolirt aus Excrementen von Pferden oder Kaninchen. 4) Bakterium D eine Form aus einem Brie-Käse, welche Rechtsmilchsäure bildet. Diese vier sehr ähnlichen Formen vergähren alle Glykose und bilden bei Gegenwart von Pepton Indol; alle mit Ausnahme der ersten vergähren auch Milchzucker.

Alle diese Formen bilden Linksmilchsäure mit rechtsdrehendem Zinksalz aus Glykose, wenn ihnen Ammoniaksalze als einzige Stickstoffquelle zur Verfügung stehen. Die verwendete Nährlösung enthielt in 250 cc:

Glykose	10 g	10 g	10 g
Phosphorsaures Ammon	0,5 „	1 „	2,5 „
Schwefelsaures „	0,5 „	1 „	2,5 „

Verwendet man aber Pepton statt der Ammoniaksalze so geben:

Bacillus typhi B. coli l	Linksmilchsäure mit rechtsdrehendem Zinksalz
B. coli d B. D	Rechts „ „ links „ „

Die Natur der Produkte wird nicht verändert, wenn man einen Theil des Peptons durch Syntonin oder Bouillon ersetzt oder andere Zusätze macht, sofern nur die Menge des Eiweissstickstoffs erhalten bleibt. Aber innerhalb jeder der beiden Gruppen lassen sich noch Unterschiede konstatiren, wie im Folgenden gezeigt wird.

Dieselbe Bakterienform bildet aus derselben Menge zersetzter Glykose desto weniger Milchsäure, je mehr Pepton zugegen ist. So bildete Bacillus coli 1 in 250 cc Lösung, die 10 g Glykose enthielten bei 3 g Pepton 2,373 g Linksmilchsäure, bei 6 g Pepton nur 1,170 g und wenn man 10 g Pepton zusetzt, bildet das Bakterium keine Milchsäure und überhaupt keinen optisch aktiven Körper mehr. Andererseits bildet der B. typhi immer Milchsäure, wenn auch noch so viel Eiweissstickstoff in der Nährlösung vorhanden ist. Hierdurch unterscheiden sich also die beiden Formen der vorhin aufgestellten ersten Gruppe.

Was andererseits die zweite Gruppe anlangt, so bildet B. coli d ein Gemenge der beiden isomeren Milchsäuren, in dem die rechtsdrehende umsomehr überwiegt, je günstiger die Gährungsbedingungen sind. Wenn man aber zuviel Pepton giebt, so findet man überhaupt keinen optisch aktiven Körper mehr. Das Mengenverhältniss der von der genannten Form gebildeten beiden Milchsäuren variirt nach der Dauer der Gährung, wie folgende die Linksdrehung des Zinksalzes angebende Zahlen zeigen

nach 48 Stunden Gährdauer $\alpha_D = -6{,}36$
nach Ablauf der Gährung $\alpha_D = -3{,}40$

Im Anfang der Gährung, wo dieselbe weit lebhafter ist als nachher, entsteht also verhältnissmässig mehr rechtsdrehende Säure, später mehr linksdrehende[1].

Der Bacillus D macht in Pepton-Glykoselösung stets reine Rechtsmilchsäure und ist in dieser Beziehung unabhängig von Veränderungen der Nährlösung.

Aus dem Gesagten folgt auch, dass es verschiedene Arten von B. coli giebt und dass dasjenige, welches im menschlichen Darm vorkommt hinsichtlich der Produktion aktiver Milchsäure dem Bacillus typhi aus Typhusmilz nahe steht[2]. Ausserdem geht aus dem Angeführten hervor, dass manche Bakterien nur Linksmilchsäure produciren können, dass aber die, welche bei günstigen Gährungsbedingungen Rechtsmilchsäure bilden ebenfalls Linksmilchsäure liefern wenn die Verhältnisse ungünstiger werden. Es kann dies entweder darin begründet sein, dass die Bildung der Linksmilchsäure leichter ist oder dass sie schwerer weiter zersetzt wird, wie die Rechtsmilchsäure. Untersuchungen des Verf. über die Beziehungen der Zuckerart zu der der gebildeten Milchsäure zeigen, dass B. typhi und B. coli 1 bei Gegenwart von Pepton oder Ammoniaksalzen aus allen Zuckerarten, die sie angreifen, Linksmilchsäure machen. Bacillus D bildet, wenn die nöthige Menge Pepton vorhanden ist, Rechtsmilchsäure aus den Aldosen Dextrose,

---

[1]) Vgl. Perdrix: Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 240.

[2]) Vgl. hierzu die Litteratur über die Unterscheidung von B. coli und B. typhi in Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 78.

Galaktose, Mannose und auch aus den Cetosen, den Pentosen und den Zuckerarten mit 12 C, die vor der Vergährung nicht in Glykose umgewandelt zu werden scheinen. Bei der Vergährung von Rohrzucker ist nie ein reducirender Körper nachweisbar. Hervorzuheben ist, dass also aus der linksdrehenden Lävulose ein rechtsdrehender, aus der rechtsdrehenden Dextrose ein linksdrehender Körper entstehen kann.

Bei diesen drei Bakterienformen hängt demnach die Natur des Gährungsproduktes nicht von der Zuckerart sondern von der Natur und Menge der Stickstoffnahrung ab.

Dagegen bildete das B. coli d unter denselben Gährungsbedingungen aus

Dextrose	Rechtsmilchsäure, deren Zinksalz ergab α_D =	— 3,40
Galaktose a	Links " " " " " "	+ 4,20
Mannose d	" " " " " " "	+ 5,86

wobei die Zucker gleich schnell vergohren wurden.

Mannit verhielt sich wie Mannose. Aus Arabinose bildete das genannte Bakterium ein Gemenge beider isomerer Milchsäuren aber mehr linksdrehende. Die Zucker mit 12 C wurden vor der Vergährung nicht in Glykose verwandelt, Milchzucker ergab inaktive Milchsäure, Rohrzucker einen kleinen Ueberschuss rechtsdrehender Säure. Bei dem B. coli d hängt also das Gährungsprodukt auch von der Natur des Zuckers ab.

Aus den mitgetheilten Beobachtungen geht hervor, dass alle Zuckerarten, welches auch ihr Molekulargewicht, Struktur, Drehung etc. seien, je nach der Natur der vergährenden Bakterienform und den Gährungsbedingungen rechts- oder linksdrehende oder durch Kompensation inaktive Milchsäuren liefern können.

Der Verf. untersucht weiter die Einwirkung der genannten Bakterienformen auf Körper, die ein aus zwei disymmetrischen Molekülen bestehendes Molekül besitzen und verwendet als solche die durch Kompensation inaktive Milch- und Aepfelsäure. Beide ähneln sich durch ein asymmetrisches Kohlenstoffatom und dadurch dass sie sowohl Alkohol- wie Säurenatur besitzen. Die bisherigen Beobachter wie Lewkowitsch und Linossier[1] und der Verf. selbst[2] haben zwar beobachtet, dass Penicillium oder B. coli die inaktive Milchsäure optisch aktiv machen, ohne dass man ganz sicher sagen könnte, worauf dies beruht. Frankland[3] konnte dagegen konstatiren, dass ein Bakterium vorzugsweise das Kalksalz der Linksmilchsäure angreift, während das der isomeren Säure zurückbleibt. Das B. coli l des Verf. arbeitet umgekehrt aber je nach den Gährungsbedingungen verschieden intensiv und zwar nicht merklich bei Gegenwart von Pepton und andererseits bei An-

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 177.
[2]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 81.
[3]) Siehe hinten p. 193.

wesenheit von Ammoniaksalzen desto stärker, je weniger von diesen Salzen vorhanden ist.

Vergleichsweise hat Verf. im Anschluss an die Arbeit von DUCLAUX[1] auch die Oxydation der Milchsäure im Sonnenlichte untersucht und gefunden, dass Anfangs auch hier die Rechtsmilchsäure etwas stärker angegriffen wird, während später beide Komponenten gleich stark zersetzt wurden.

Weitere Versuche ergaben, dass eine Lösung inaktiver Aepfelsäure, in denen B. coli 1 wuchs, inaktiv blieb, während sich kohlensaurer Kalk absetzte. Zur Erklärung dieses Ergebnisses machte Verf. Kulturen mit natürlicher Linksaepfelsäure, in denen er, falls nur wenig Ammoniaksalze zugegeben worden waren, Spuren von Linksmilchsäure fand. Wie hier die Aepfelsäure in Linksmilchsäure übergeführt wird, so werden beide Hälften des Moleküls der inaktiven Aepfelsäure parallel rückwärts in inaktive Milchsäure vorübergehend umgewandelt; Stereo-Isomere der Aepfelsäure sind in solchen Kulturen nie nachzuweisen. Nach diesen Erfahrungen glaubt Verf., dass die natürliche linksdrehende Aepfelsäure nicht von der inaktiven von GINTL in Fraxinus excelsior aufgefundenen Aepfelsäure abzuleiten ist, sondern von einem komplizirteren Körper und vielleicht durch Reduktion aus der linken Hälfte der Traubensäure entsteht, die Rechtsweinsäure und Linksäpfelsäure geben würde; hierfür spricht, dass die letztgenannten beiden Körper in der Natur nebeneinander vorkommen und dass nach BREMER aus den aktiven Weinsäuren durch chemische Reduktionsmittel Aepfelsäuren entstehen, die im selben Sinne optisch aktiv sind, wie die Weinsäuren, aus denen sie entstanden.

Sehr verschiedenartig sind demnach die analytischen Prozesse, die die acide Zelle anwendet, um optisch aktive Körper zu bilden: Zerspaltung einer racémique[2] mit einem asymmetrischen Kohlenstoffatom wobei eine Seite des Moleküls in optisch inaktive Körper übergeführt wird, während die andere ihre Struktur behält: Bildung von Linksmilchsäure aus inaktiver Milchsäure; Zersetzung einer aktiven oder durch Kompensation inaktiven Säure mit einem asymmetrischen Kohlenstoffatom, die wegen der Konstitution einer ihrer Atomgruppen verhältnissmässig komplizirt gebaut ist, wobei vorübergehend oder definitiv eine aktive einfachere Säure entsteht: Bildung von Linksmilchsäure aus Aepfelsäure; mässige Spaltung einer acide racémique mit zwei asymmetrischen Kohlenstoffatomen, wobei eine Hälfte des Moleküls ihre Struktur behält, während die andere in einer ihrer Gruppen die Asymmetrie verliert: ein solcher Prozess könnte aus Traubensäure Rechtsweinsäure und Linksaepfelsäure entstehen lassen; endlich Verschiebung eines Moleküls mit Alkohol- oder Aldehydnatur, welches 3-4 asym-

[1]) Siehe oben p. 85.

[2]) Wäre zu übersetzen: Nach Art der Traubensäure konstituirte also inaktive Säure.

metrische Kohlenstoffatome einschliesst, wobei verschieden optisch aktive Körper entstehen können: Bildung isomerer Milchsäuren aus Zuckerarten.

Viel komplizirter werden natürlich die Vorgänge sein, die optisch aktive Körper aus Eiweissstoffen bilden, weil letztere sicher asymmetrische Kohlenstoffatome in grösserer Zahl enthalten.

Tate (315) fand bei Untersuchung der Organismen, die reife Birnen angreifen eine Bakterienform, die Linksmilchsäure aus Dextrose und Mannit bildet. Wie er im Liverpool Medico-Chirurgical Journal (1893) näher ausführt, war die Reinkultur dadurch erschwert dass die „askoiden“ Colonien mehr als eine Form enthielten. Er glaubt aber Reinkulturen dadurch erhalten zu haben, dass er das Material so lange successive in Dextrosenährlösungen kultivirte bis es in Fleischwasserpeptongelatine einheitliche Colonien gab. Auch bildete das so reinkultivirte Material nach Durchgang durch Mannitlösungen Colonien, die von den aus Dextroselösungen erhaltenen nicht zu unterscheiden waren. In Lösungen z. B. von Glycerinpepton, worin wenig Säure producirt wird, bildet die Form lange oder kurze Stäbchen, auch angeblich Coccenketten, bei Gegenwart von Mannit oder Dextrose auch Sporen. Material aus Glyceringährflüssigkeit bildet auf Nährgelatine weisse Colonien, wie Hueppe's Milchsäurebacillen, ohne die Gelatine zu verflüssigen. In Dextrose enthaltender Gelatine werden die Colonien sehr zähe und enthalten Massen von Askokokken, die oft 0,005 mm Durchmesser haben. Andererseits bildet ein vom Verf. mit B bezeichneter Typus dieser Bakterienform untergetauchte gezähnte Colonien, die oberflächlichen sind körnig und enthalten concentrisch angeordnete runde Massen. Auf Dextrosegelatine werden die Colonien sagoähnlich, ähneln bei fortgesetzter Kultur aber denen des Typus A. Verf. findet, dass sein Organismus dem Leuconostoc[1] sehr ähnlich ist aber nicht damit übereinstimmt. Seine Form vergährt Rohrzucker nicht und bildet keine Säure aus Glycerin.

Der Verf. liess nun Dextrose, Mannit und Rhamnose in Lösungen, welche ausserdem Pepton und die nöthigen reinen Nährsalze enthielten unter Luftzutritt vergähren. Die Resultate enthält die umstehende Tabelle. Die Buchstaben A-D bezeichnen die einzelnen Parallelversuche.

Die untersuchte Form bildet also aus Dextrose und Mannit Linksmilchsäure, aus Rhamnose inaktive Milchsäure; aus einer Rhamnosekultur übergeimpft in eine Dextroselösung bildet sie hier aber wieder Linksmilchsäure. Verf. hofft daher durch Vergährung anderer Glykosen Aufschlüsse über den räumlichen Aufbau der Glykosemoleküle zu erhalten, vielleicht auch eine Rechtsmilchsäuregährung zu erzielen. Das Studium der Dextrosevergährung lässt ihn annehmen, dass der untersuchte Organismus Gruppen von 9 oder mehr Molekülen und nicht einzelne angreift.

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 90.

	Milligramm-Moleküle				Molekular-Verhältniss							
					Dextrose = 1				Dextrose = 9			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Dextrose	38.1	86.6	34.9	44.3	1	1	1	1	9	9	9	9
Alkohol (C_2H_6O)	8.18	17.7	7.1	10.7	0.214	0.204	0.20	0.24	1.93	1.84	1.80	2.16
Ameisensäure	1.17	Spur	} 4.6	0.8	0.037	—	} 0.13	0.018	0.33	—	} 1.17	0.16
Essig „	2.47	11.0		2.6	0.065	0.127		0.059	0.58	1.14		0.53
Bernstein „	4.06	9.8	3.3	5.5	0.107	0.113	0.095	0.12	0.96	1.02	0.86	1.08
Linksmilchsäure	32.45	67.4	29.6	33.2	0.851	0.778	0.848	0.749	7.66	7.00	7.63	6.74

	Milligramm-Mol.			Molekularverhältniss : 6 C_2H_6O		
	A	B	C	A	B	C
Mannit	—	—	30.7	—	—	9.78
Alkohol C_2H_6O	19.75	30.0	18.8	6	6	6
Ameisensäure	6.65	} 15.5	2.77	2.0	} 3.1	0.88
Essigsäure	3.35		3.55	0.98		1.14
Bernsteinsäure	1.66	2.66	0.2	0.50	0.53	—
Linksmilchsäure	29.0	59.8	36.9	8.8	12.0	11.8

	Milligr. Mol.		Molekularverh. Rhamnose = 1		Molekularverh. Rhamnose = 9	
	A	B	A	B	A	B
Rhamnose	31.9	17.4	1	1	9	9
Essigsäure	17.7	10.1	0.555	0.580	5.0	5.2
Bernsteinsäure	0.25	0.55	0.008	0.03	0.07	0.27
Inaktive Milchsäure	15.5	7.2	0.485	0.413	4.4	3.7

College of Chemistry, Duke Street, Liverpool.

Frankland und **MacGregor** (290) haben früher vergeblich versucht Milchsäure zu vergähren. Nachdem es gelungen ist aus der nahestehenden Glycerinsäure eine der beiden theoretisch möglichen aktiven Glycerinsäuren durch Gährung zu erhalten, haben derartige Versuche mit Milchsäure neues Interesse gewonnen.

Rechtsdrehende Fleischmilchsäure wurde früher mehrfach als Produkt

unreiner Vergährungen und von NENCKI und LIEBER bei einer reinen Dextrosegährung erhalten. Die Links-Milchsäure erhielt SCHARDINGER[1] durch reine Vergährung von Rohrzucker. Auf chemischem Wege stellten PURDIE und WALKER[2] beide aktiven Milchsäuren aus der inaktiven dar. LEWKOWITSCH versuchte schon durch theilweise Zersetzung aktive Componenten aus der inaktiven Milchsäure zu erhalten und fand dass nach Kultur von Penicillium glaucum in Ammoniumlaktat die Flüssigkeit rechtsdrehend wurde während LINOSSIER[3] das Gegentheil beobachtete.

Die Verf. fanden nun zufällig ein Bakterium, welches sie noch nicht näher beschreiben wollen, welches aber inaktiven milchsauren Kalk so vergährt, dass zuerst die linksdrehende Säure mit rechtsdrehenden Salzen zersetzt wird. Die übrigbleibende Säure, von der die Verf. das Zink- und Kalksalz darstellen, war reine Fleischmilchsäure. Lässt man die Gährung längere Zeit weiter gehen so wird auch die Fleischmilchsäure zersetzt.

Diese Erscheinung steht also der Vergährung von Calciumglycerat durch Bacillus ethaceticus[4] sehr nahe, wo auch das rechtsdrehende Salz zuerst zersetzt wird. Die Verf. haben bei dieser Gährung aber inzwischen eine sehr interessante Anpassungserscheinung beobachtet. Während früher der Bacillus ethaceticus das linksdrehende Calciumglycerat unzersetzt übrig liess, vergährt er dasselbe jetzt merklich, wenn er lange in Lösungen von glycerinsaurem Kalk kultivirt wurde. Um eine gute Ausbeute von linksdrehendem Glycerat zu erhalten, muss man daher die Gährung zeitig unterbrechen oder Bakterienmaterial nehmen, welches nicht in Glyceratlösung kultivirt wurde.

Timpe (316) knüpft an die Ausführungen von KABRHEL an, wonach in Milch deshalb durch Bakterien mehr Säure als in eiweissfreien Zuckerlösungen entstände, weil das Caseïn einen Theil der Säure binde und so deren schädlichen Einfluss auf die Bakterien eliminire. KABRHEL habe dabei aber die Angabe von SÖLDNER nicht in Betracht gezogen, wonach Caseïn selbst die Rolle einer Säure spielt, wodurch der Unterschied zwischen dem Säuregehalt caseïnfreier und caseïnhaltiger Lösungen sich erklären lasse. Bei Betrachtungen darüber, warum in Molken mehr Säure sich finde als sonst in Zuckerlösungen lasse KABRHEL ausser Acht, dass in der Milch beträchtliche Mengen Phosphate enthalten sind, welche einen Theil ihres Alkalis zur Neutralisation der gebildeten Milchsäure abgeben und dabei selbst in einbasische Salze übergehen, die nicht wie freie Säure entsprechend ihrer sauren Reaktion antiseptisch auf Bakterien zu wirken brauchen. Es ist daher natürlich, dass Molken grössere Acidität zeigen als

[1]) Koch's Jahresbericht I, 1890, p. 85.
[2]) Ebenda III, 1892, p. 171.
[3]) Ebenda II, 1891, p. 177.
[4]) Ebenda II, 1891, p. 237; III, 1892, p. 231.

phosphatfreie Zuckerlösungen. Bei der Neutralisation saurer Molken entstehe ein Niederschlag von Calciumphosphat und nicht von Acidalbumin, wie Kabrhel meine. Der Verf. will nun die thatsächliche höhere Säureproduktion bei Gegenwart mehrbasischer Phosphate nachweisen und untersuchen, wie das Caseïn bei der erhöhten Milchsäurebildung in der Milch betheiligt ist.

In reiner Milchzuckerlösung bildete Bacillus acidi lactici auch bei Zusatz von kohlensaurem Kalk keine Milchsäure und vermehrte sich so gut wie nicht. Dasselbe negative Resultat ergaben Milchzuckerlösungen mit den einzelnen Salzen der Milch oder der gesammten Milchasche:

1. Milchzucker + K_2HPO_4
2. „ + $Ca_3P_2O_8$
3. „ + $Ca_3P_2O_8$ + K_2HPO_4
4. „ + K_2HPO_4 + KCl + NaCl
5. „ + Milchasche

Die mineralischen Bestandtheile der Milch reichen also allein nicht aus, um den Milchsäurebakterien Vermehrung und Gährung in Zuckerlösung zu ermöglichen, wohl ist dies aber nach Beigabe von Ammoniak der Fall.

Nach den in dieser Beziehung unklaren Angaben des Verf. scheinen die Milchsäurebakterien auch in Flüssigkeiten, die nur Milchzucker und unorganische Ammonsalze enthalten, kräftig zu gähren.

Eine solche Lösung mit Milchzucker und Chlorammonium gestattet die Feststellung dass die Milchsäurebakterien sich bei einem Gehalt der Lösung von 0,04 % freier Milchsäure nicht weiter entwickeln.

Hinsichtlich der Wirkung der Phosphate auf die Milchsäuregährung findet Verf. bei Versuchen mit Milchzuckerlösung, die mit Chlorammonium und Dikaliumphosphat versetzt war, dass abgesehen von der kleinen zur Ernährung nöthigen Menge Phosphorsäure die Wirksamkeit einer grösseren Menge mehrbasischer Phosphate nur darin besteht, dass sie einen Theil ihrer Basis zur Neutralisation der gebildeten Milchsäure hergeben und daher ebenso wie ein anderes Neutralisationsmittel, nicht aber wie Hueppe will, als besonders günstiger Nährstoff wirken. In Versuchen mit steigenden Mengen Dikaliumphosphat steigt jedenfalls auch die Menge der gebilten Milchsäure.

Dass kohlensaurer Kalk oder Zinkoxyd nicht ebenso günstig durch Neutralisation wirken, kann daher rühren, dass die gebildete Säure dadurch nicht sogleich in statu nascendi gebunden wird.

Da die mehrbasischen Phosphate fast die Hälfte der Gesammtmenge der mineralischen Bestandtheile der Milch ausmachen, so erklärt sich aus dem Gesagten die grössere Säurebildung in Milch gegen phosphatfreie Nährlösungen und es liegt kein Grund vor mit Fokker diese Beobachtung so zu deuten, dass das Casein das eigentliche Säureferment sei.

Die Wirkung des Caseins auf die Milchsäuregährung untersucht Verf. nun, da in Milch die Gegenwart der Phosphate nach dem Gesagten stört, in Milchzuckerlösungen, denen nach Hammarsten bereitetes Casein zugesetzt war. Aus den Versuchen folgert Verf., dass Casein sich wirklich mit Milchsäure chemisch verbinden dürfte und dass die Menge der Säure äquivalent der Alkalimenge zu sein scheine, welche zur Neutralisation des Caseins selbst erforderlich ist. Ganz ähnlich wie Casein verhalten sich auch Pepton und der in Bouillon enthaltene Leim. Zur Neutralisation der an 1 g Casein gebundenen Säure waren 9,35, zu der an 1 g Pepton gebundenen 10, zu der an 1 g Gelatine gebundenen 9,85 cc $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge nöthig.

Die Milchsäurebildung geht nur so weit, als zur Bindung des Caseins resp. des Leimes nöthig ist. Während man aber beim Casein annehmen konnte dass dasselbe nach erfolgter Fällung als unlöslicher Körper kein geeignetes Nährmaterial für Bakterien sei, ist diese Annahme bei einem gelösten Körper wie Leim nicht zulässig. Andererseits könnte man annehmen, dass durch den Stickstoffverbrauch die genannten Substanzen ihren Charakter als Basis verlieren und so ein Freiwerden der schon gebildeten Säure erfolge. Dem steht aber die Thatsache gegenüber, dass bei Gegenwart von Ammonsalzen, für welche dasselbe gelten würde, das Wachsthum bis zu einer bestimmten Säureconcentration fortschreitet. Es bleibt daher nach Verf. kaum eine andere Annahme übrig, als dass die genannten Körper durch ihre Verbindung mit Säuren chemisch so verändert sind, dass sie als Nährmaterial für die untersuchten Milchsäurebakterien nicht mehr dienen können.

Hiernach ist erklärlich, dass nach Hueppe Pepton die beste Stickstoffquelle für Milchsäurebakterien ist, denn ebenso wie oben gelöste und ungelöste anorganische Neutralisationsmittel sich unterscheiden, wird das gelöste Pepton der Säure leichter zugänglich sein, als unlösliche Eiweisskörper oder gequollenes Casein. Ebenso erklärlich ist, dass das Ammoniaksalz der zweibasischen Weinsäure in seinem Nährwerth dem Pepton sehr nahe kommen soll.

Was nun die Ursachen der erhöhten Milchsäureproduktion in Milch betrifft, so zeigt Verf. dass das zweibasische Phosphat der Milch beim Uebergange in den einbasischen Zustand Alkali entsprechend 0,2536 g Milchsäure in 100 cc Milch abgebe, das in Kalkverbindung vorhandene Casein durch Kalkabgabe und direkte Milchsäurebindung zusammen 0,351 g Milchsäure neutralisire, was wenn auch die sonstigen Eiweisskörper der Milch ähnliche säurebindende Eigenschaften haben wie das Casein, auf die von Hueppe als freie Säure angesprochene Zahl von 0,8 $^0/_0$ führt.

Titrirt man andererseits saure Milch mit Phenolphtalein, so titrirt man erstens das Casein und die an dasselbe gebundene Säure, zweitens die

in der sauren Milch als einbasische Salze vorhandenen Phosphate, von denen ein Theil bei der Neutralisation durch den in der Milch enthaltenen Kalk als dreibasisch phosphorsaurer Kalk gefällt wird und findet, wenn man das Resultat auf Milchsäure umrechnet wiederum die von Hueppe angegebene Zahl (0,835 %).

Die von Richet gemachte und von Hueppe bestätigte Beobachtung, dass in Milch, die unter ihrer Zersetzungstemperatur sterilisirt wurde, bis 0,3 % mehr Milchsäure entstehen kann, vermag nach den Versuchen des Verf. nicht so erklärt zu werden, dass das bei höheren Sterilisirtemperaturen gefällte Albumin als Nährstoff verloren geht, ist aber auch nicht darauf zurückzuführen, dass dieses gefällte Albumin die Fähigkeit der Säurebindung verloren hat, denn dann könnte der Unterschied in der Säurebildung kein so grosser sein. Verf. führt jene Thatsache vielmehr darauf zurück, dass in kalkhaltiger Phosphatlösung beim Sieden Tricalciumphosphat fällt, welches beim Erkalten sich nicht wieder löst; dadurch geht eine 0,321 g Milchsäure pro 100 cc Milch entsprechende Menge CaO als Neutralisationsmittel verloren.

Es fragt sich weiter, ob diese Gründe, welche die Menge der gebildeten Säure bestimmen, von Einfluss auf die Gerinnungsdauer der Milch sind. Es ergiebt sich, dass das Casein, welches in Verbindung mit Alkali in der Milch enthalten ist, zu demselben eine grössere Affinität hat als die zweifach sauren Phosphate bei mittlerer Temperatur und dass die Gerinnungsdauer unter sonst gleichen Bedingungen abhängig von der Menge Alkali ist, welche beim Uebergange der mehrbasischen Salze in ein basisches Salz zur Neutralisation der gebildeten Milchsäure frei wird; vor Eintritt der Gerinnung muss die Säurebildung erst so weit gehen, bis alles Phosphat in einbasisches Salz verwandelt ist.

Wurtz und **Leudet** (319) betonen von Neuem dass sie keinen Unterschied zwischen dem Hueppe'schen Milchsäurebacillus und dem B. lactis aërogenes von Escherich finden können, da auch ersterer bei Luftabschluss eine kräftige Gährung in sterilisirter Milch hervorbringe. Es giebt wahrscheinlich Varietäten des Milchsäurebacillus, aus denen aber keine besonderen Species gemacht zu werden brauchen.

Wurtz und **Leudet** (320) finden, dass mit Milchsäurebacillen geimpfte Thiere schnell unter starker Diarrhoe und pathologischen Veränderungen des Magens und Darmes starben. Dieselben Erscheinungen zeigten sich nur weniger intensiv nach Injektion sterilisirter Kulturen. Die toxische Wirkung scheint mit dem Eiweissgehalt des Substrates zu steigen. (Chem. Centralbl.)

Milchsterilisirung.

Auerbach (279) führt auf Grund von bakteriologischen Prüfungen von Futtermitteln aus, dass bei Weidegang oder Grasfütterung in wechseln-

dem Prozentsatz der sterilisirten Milchproben Zersetzungen auftreten, die bei Trockenfütterung ausbleiben. Der von Botkin[1] beschriebene B. butyricus kommt in Milch bei Trockenfütterung nicht, wohl aber in anderer landwirthschaftlicher Milch im Sommer sehr häufig vor und ist für den Säuglingsdarm bedenklich. Sterilisirung nach Soxhlet[2] genügt bei Milch unbekannter Herkunft wohl für die Bedürfnisse des Haushaltes aber nicht zur Herstellung von Kindermilch. Bei guter Trockenfütterung genügt 30 Minuten lange Sterilisirung bei 100°, bei Grasfütterung geben erst 80 Minuten sicheres Resultat. Frisches Wiesenheu hat nicht die Vortheile des Trockenfutters. (Chem. Centralbl.)

Pauly (305) theilt mit, dass auf dem Gute Napachanie, 15 km von Posen, die Milch nach dem Abseifen der Euter gemolken, in Gefässen von verzinntem Weissblech gesammelt, zwei Mal centrifugirt und in Flaschen zu 1-200 g abgefüllt wird; letztere werden mit Gummiplatten und Metallhülsen, die nach jedem Gebrauch mit Soda gewaschen und $^1/_2$ Stunde bei 105° C gehalten werden, nach Soxhlet verschlossen. Die Stifte der Metallkappen müssen dabei etwas nach unten gebogen sein, damit beim Kochen die Gummiplatten nicht in schräge Lage kommen. Die Milchflaschen werden in einem grossen Blechkasten, in den der Dampf von unten einströmt bei 104, im Sommer bei 104,5° sterilisirt. Geringere Temperaturen geben für die Haltbarkeit der Milch keine zuverlässige Gewähr, bei höheren Temperaturen verliert die Milch wohl durch Verminderung des Caseins ihre Opalescenz, wird braun und ist dem Säuglingsmagen dann nicht zuträglich.

In Posen kostet diese sterilisirte Milch pro 100 g-Flasche 3, pro 200 g 6 ₰. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Legay (299) beschreibt einen Milchsterilisator, der aus einem Gefäss von 500-1000 cc Inhalt besteht, auf dessen Oeffnung ein gläserner Flaschenhals mittelst Gummiring luftdicht befestigt werden kann. Auf dem Halse befinden sich zwei Marken, die mit 75 und 80° C bezeichnet sind. Das mit Milch bis an den Rand des Flaschenhalses gefüllte Gefäss wird im Wasser- oder Sandbade erhitzt, bis die Milch bis zu der 80° Marke steigt; das Gefäss wird dann vom Feuer genommen und behält die Temperatur 10-12 Minuten lang bei, worauf man es auf 10-12° kühlt. Die so pasteurisirte Milch soll 3-4 Tage frisch bleiben. (Chem. Centralbl.)

Langermann (298) erwähnt, dass das Sterilisirverfahren nach Soxhlet nicht viel bessere Resultate als ein gewöhnlicher Milchkocher oder das einfache Aufkochen der Milch gebe, wenn die Milch nur im Kochgefäss aufbewahrt bleibe. Die Luftinfektion spielt auch bei lose verschlossenem Gefässe eine geringe Rolle, während nicht sterilisirte Gefässe, in welche

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 233.

[2]) Ebenda II, 1891, p. 187.

sterilisirte Nahrung geschüttet wird, lebhafte Bakterienvermehrung veranlassen. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Hesse (294) theilt Erfahrungen aus der Milchsterilisiranstalt von Gebr. PFUND in Dresden mit, wo nach den von ihm[1] aufgestellten Grundsätzen gearbeitet wird. Die Milch trocken gefütterter Kühe wird zu dem Zwecke sauber gemolken, sofort auf 10-12° gekühlt, schleunigst zur Bahn gebracht, so dass sie in 2-8 Stunden mit höchstens 15° in die Molkerei gelangt, wo sie sofort durch Centrifugiren vom Milchschmutz befreit, auf 65° erwärmt und aus einem Sammelgefäss in gründlich mit Dampf gereinigte mit Patentverschluss versehene $^1/_8$-Literflaschen gefüllt wird. Die sofort verschlossenen Flaschen kommen dann in den vom Dampfkessel vorgeheizten Sterilisirapparat, wo ihr Inhalt in 10 Minuten auf 100° kommt und bleiben $1^3/_4$ Stunden bei dieser Temperatur. Dann werden sie zur schnellen Abkühlung weit auseinander auf gegitterte Platten gestellt, um die Abkühlung möglichst zu beschleunigen und unnöthige Nachbräunung zu verhindern.

Der Sterilisirofen ist ein durch Gitter getheilter 1 m tiefer, 1 m breiter, 2,3 m hoher eiserner Schrank, in den die Flaschen zu je 25 in Körben eingestellt werden. Aus einer der hinteren Ecken des Schrankes verläuft von oben nach unten das dampfzuführende, mit zahlreichen Oeffnungen versehene Rohr, der Abzug für Dampf und Kondenswasser befindet sich am Boden des Schrankes. Die erzeugte Kindermilch genügt allen Anforderungen, übertrifft jede andere in den Handel gebrachte Milch an Haltbarkeit und erreicht sie mindestens hinsichtlich Bekömmlichkeit. Sie hat sich wochenlang in heissestem Klima mitgeführt oder Monate lang in Wohnungen oder Läden aufbewahrt gut gehalten. Von jedem Sude wurden 2 Proben an zwei Stellen 3 Monate im Brütofen gehalten, eine 1 Jahr bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt. Von den im Jahre 1891 sterilisirten 70 903 Litern verdarben im Brütofen 7,6 % der aufbewahrten Proben. Die Zahl der Misserfolge schwankt der Zeit nach und an den beiden Kontrollstellen in ganz unregelmässiger Weise; nur äusserst selten verdarben an beiden Kontrollstellen beide Proben desselben Sudes. Die Gründe dieser Schwankungen sind nicht aufgeklärt, sonderbar ist, dass gerade im August und September die Erfolge am besten waren.

Mit grossen Mengen Gartenerde oder Kartoffelschalen versetzte und sofort verschlossene Milch hielt sich nach schnellem Erhitzen auf 140° und sofortiger Entfernung aus dem Dampfkessel dauernd unversehrt, aber dieses Verfahren ist praktisch nicht anwendbar, weil die Milch nicht schnell genug abgekühlt und damit die erst nach dem Erhitzen eintretende Bräunung nicht vermieden werden kann.

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 190.

Einige Massenversuche mit verschiedene Zeit bei 100-102^0 im strömenden Dampfe gehaltenen Flaschen wurden noch angestellt um festzustellen, wie sich grössere Mengen gleichzeitig sterilisirter Milch verhalten:

Dauer der Dampfwirkung. 100-102^0	Zahl der zum Versuche verwendeten $^1/_3$-Literflaschen	Verdorben
2 Stunden	100	3
$1^1/_2$ „	99	0
$1^1/_4$ „	100	56
$1^1/_2$ „	98	0

Sämmtliche Flaschen wurden auch hier mindestens 3 Monate im Brütofen beobachtet. Die Ergebnisse sind gleichmässiger und besser, wie die oben erwähnten. Man sieht, dass der Dampf mindestens $1^1/_2$ Stunden wirken muss, längere Einwirkung desselben verspricht kein wesentlich besseres Ergebniss. Ueber die im kalten Lager aufbewahrten Proben wird sich ein endgültiges Urtheil erst später abgeben lassen.

Fraenkel (289) beschreibt einen neuen von Popp und Becker in Frankfurt eingeführten Flaschenverschluss zur Milchsterilisirung. Derselbe bezweckt ebenso wie das Verfahren von Neuhauss, Gronwald und Oehlmann die Möglichkeit eines Verschlusses der im Dampfapparat stehenden Flaschen von aussen her. Zu dem Zweck sind die mit gezähnter Halsinnenseite versehenen Flaschen mit Gummipfropfen verschlossen, die eine centrale und eine damit in Verbindung stehende seitliche Bohrung haben. Ein runder Glasstöpsel mit viereckigem Kopf und seitlicher Rinne wird so in die centrale Bohrung des Kautschukpfropfen gesteckt, dass diese Rinne mit der seitlichen Bohrung der Pfropfen communicirt. So werden die Flaschen $^3/_4$ Stunden im Dampf von 100-102^0 erhitzt, dann durch Oeffnen des Ventils die Milch behufs Entfernung der Gase aus den Flaschen zum Aufwallen gebracht, dann weiter erhitzt und dann durch einen aus dem Dampfapparat herausreichenden Parallelogrammschieber, der die Köpfe der Glasstöpsel aufnimmt diese Glasstöpsel um 60^0 gedreht, so dass die Rinne der Glasstöpsel von der seitlichen Bohrung der Kautschukpfropfen entfernt und so die Flaschen fest verschlossen werden. In derselben Weise können die Flaschen behufs diskontinuirlicher Sterilisation wieder geöffnet werden. Als Vorzug des Verfahrens betont Verf. weiter, dass ein Kautschukpfropfen fester schliesst wie die Gummiplatte eines Patentverschlusses und dass bei dem beschriebenen Verfahren weniger Flaschenbruch, wie bei der Verwendung von Patentverschlüssen zu erwarten sei. Verf. giebt weiter an, dass mit Sporen von Heubacillen, Milzbrandbacillen u. s. w. inficirte Milch durch das Verfahren sicher sterilisirt war. Der Geschmack der Proben unterschied sich nicht von dem anderweitig sterilisirter Milch. Das Verfahren ist in Frankfurt seit einem Jahre im grösseren Massstabe in praktischem Gebrauch.

Flaack (288) stellt sterilisirte Milch auch in Kannen in strömenden Dampf bei geringem Dampfverbrauch her, welche fast gar nicht gebräunt ist, kaum merklichen Kochgeschmack zeigt, sehr haltbar ist und einen auch nach Monaten noch leicht vertheilbaren Rahm zeigt. Die mit Fritschner'schem Verschluss versehenen Gefässe werden vor der Hauptsterilisation verschlossen. Näheres wird nicht mitgetheilt. (Chem. Centralbl.)

Stutzer (314) konstruirte einen automatischen Verschluss für Milchsterilisirflaschen oder -kannen, bei dem während des Erhitzens der Milch die Luft durch ein Ventil entweicht, welches nur von Innen sich öffnen kann, so lange der Druck von Innen stärker als derjenige der äusseren Umgebung ist. Hat diese Druckdifferenz sich ausgeglichen, so bleibt das Ventil, während das Gefäss sich noch im Dampf befindet geschlossen. Nimmt man nach dem Sterilisiren die Flaschen oder Kannen aus dem Dampfbehälter heraus, so drückt die äussere Luft das Ventil bei Flaschen in den Flaschenhals, bei Kannen in den angebrachten Stutzen so fest ein, dass auch bei rauher Behandlung der Gefässe das Ventil freiwillig sich nicht öffnen kann, sondern erst dann, wenn man die ganze Gummikappe nebst Ventil beseitigt. Es kann dann das Gefäss von unberufenen Händen nicht unbemerkt geöffnet werden, weil es zum Verschluss nöthig ist zwischen dem Innern der Gefässe und der diese äusserlich umgebenden Luft eine Druckdifferenz herzustellen. Das Verfahren eignet sich für Klein- und Grossbetrieb und auch für Konservengefässe.

Renk (308) betont die für Säuglingsernährung höchst ungünstige Eigenschaft sterilisirter und längere Zeit aufbewahrter Milch, dass ein grosser Theil Fett den Emulsionszustand verliert und sich in Form eines mit der Zeit immer fester werdenden Pfropfens in der Flasche ausscheidet. Der Verf. sterilisirte Milch mit Soxhlet'schen Gummiverschlüssen 1 Stunde lang bei 100° und bestimmte dann das ausgeschiedene Fett. In einem Falle hatte die Milch vor dem Sterilisiren 35,4 g Fett im Liter; folgende Tabelle giebt für diese die Menge des ausgeschiedenen Fettes in Prozenten des Gesammtfettgehaltes:

1 Tag nach der Sterilisirung	A	2.26
	B	2.54
2 " " " "	A	1.98
	B	1.98
14 " " " "		19.77
16 " " " "	A	13.56
	B	22.88
29 " " " "	A	25.12
	B	43.50

Aehnliche Maximalzahlen wurden auch in anderen Fällen, auch bei einer Milch, die auf einem Gute als Dauermilch sterilisirt war und etwa 4 Wochen nach der Sterilisirung untersucht wurde gefunden. In den ersten Tagen nach der Sterilisirung setzt die Ausscheidung ganz langsam ein, nimmt aber später schneller zu.

Für Kinderernährung verwirft Verf. daher jede länger aufbewahrte sterilisirte Milch und giebt der kurz vorher aufgekochten oder der eingedickten z. B. nach Loeflund bereiteten den Vorzug.

Martiny (301) erörtert die Frage, ob den Milchwirthschaften der Zwang auferlegt werden solle, nur erhitzte Milch zu verarbeiten. Hinsichtlich der zum direkten Genusse bestimmten Milch sei dies wünschenswerth. Dass die Milch für die Käsebereitung durch die Erhitzung nachtheilig beeinflusst werde, könne vorläufig nicht ganz in Abrede gestellt werden. Mit günstigem Erfolge ausgeführte Versuche einiger Lehrmolkereien seien noch nicht abgeschlossen. Die Forderung die Käsereimilch zu sterilisiren sei aber nicht dringlich, da kein Fall von Krankheitsverbreitung durch Käse bisher bekannt geworden sei und die Annahme zulässig erscheine, dass die Krankheitskeime bei der Käsegährung abgetödtet würden. Bei der Butterbereitung liegt die Sache anders, da Krankheitsübertragung durch Butter beobachtet sei. Das Erhitzen habe keine Nachtheile für die Butterbereitung, da das Centrifugiren dadurch erleichtert, die Güte der Butter aus Süssmilch erhöht und die derjenigen aus saurem Rahm nicht vermindert werde. Der Kostenaufwand für Kühlung werde durch den Ausschluss der Butterfehler bedingenden Nebengährungen aufgehoben.

Magermilch werde schon jetzt zur Haltbarmachung meist erhitzt.

Das Erhitzen der Milch sei in Molkereien oder in Sammelstellen, deren Einrichtung sehr wünschenswerth sei, vorzunehmen, sonst aber an der Ursprungsstelle zu fordern. Je mehr solche Sammelstellen eingerichtet würden, desto eher könne das Erhitzen der Milch zum Gesetz erhoben werden. Für die Molkereien werde der Kostenaufwand durch Abwendung der Gefahr aufgehoben, welche in dem polizeilichen Schluss der Molkereien oder dem Sinken des Verbrauchs der Molkereiprodukte zu Epidemiezeiten liege. (Hygien. Rundschau.)

Popp und **Becker** (307) knüpfen an eine Schilderung des Betriebes der Molkerei Fulda-Lauterbach an, wo die Milch erhitzt, dann centrifugirt wird; in jener Schilderung wird hervorgehoben, dass der Verbutterung des pasteurisirten Rahmes hinsichtlich des Geschmacks der Butter nichts im Wege stehe, während es fraglich erscheine, ob Käse aus pasteurisirter Magermilch ebenso gut durchreife und wohlschmecke, wie der aus nicht erhitzter Milch. Verf. untersuchen in einer Molkerei zunächst den Keimgehalt der centrifugirten, pasteurisirten oder sterilisirten Milch resp. des Rahmes und finden per cc

Vollmilch vor dem Centrifugiren	72954	Keime
Magermilch	21735	„
Rahm	58275	„
Schlamm	43891	„
Centrifugirte Magermilch	21735	„
Dieselbe pasteurisirt	1071	„
„ sterilisirt	0	„
Centrifugirter Rahm	58275	„
Derselbe pasteurisirt	1171	„
„ sterilisirt	0	„

Es wurde dann zum Vergleich Butter ohne Rahmsäuerung und unter Vermeidung des Auswaschens mit Wasser hergestellt und gefunden

	Butter	
normale Butterung	aus pasteur. Rahm	aus steril. Rahm
49581 Keime per cc	17630 K.	7497 K.
Geruch: normal	schwach talgig	stärker talgig
Geschmack: etwas sauer	weniger sauer schwach talgig	nicht sauer stärker talgig

Der Kochgeschmack der aus pasteurisirtem und sterilisirtem Rahm hergestellten Butter verlor sich am zweiten Tage. Butter aus sterilisirtem Rahm hält sich länger als die aus pasteurisirtem und diese länger wie die aus nicht erhitztem Rahm.

Sie reden auch deshalb der Sterilisirung der Rohmaterialien das Wort, weil die resistenten, beim Pasteurisiren lebendgebliebenen Keime sich ohne Concurrenz der harmlosen saprophytischen Keime entwickeln und so gefährlich werden können.

Den oben erwähnten schwach talgigen Geschmack der Butter führen Verf. auf ein Entweichen der bis zu 70^0 siedenden Fettsäuren und Ester zurück.

Krueger (296) verwirft in dieser Zusammenstellung mit Recht chemische Konservirungsmittel für Milch und betont, dass nur physikalische Hülfsmittel, wie niedrige oder hohe Temperaturen zur Süsserhaltung der Milch angewendet werden können. Bei Butter bewähren sich besser als chemische Konservirungsmittel die richtige Verpackung und Abschluss von Licht und Luft, letzteres um Ranzigwerden zu vermeiden. Von Käsen sind Hartkäse an und für sich Dauerwaare ersten Ranges; schnellreifende Käsesorten wird man kaum anders als auf Kosten des Geschmacks konserviren können, zu schnelle Veränderung des Käses kann hier nur durch niedrige Temperatur im Sommer aufgehalten werden. Bedeutungsvoll ist die von den Fabriken noch geheim gehaltene Anwendung von Konservirungsmitteln für den Quarg. Verf. glaubt, dass sich hierfür vielleicht die Fluoride bewähren. (Chem. Centralbl.)

Neumann (303) beschäftigt sich mit den Methoden um Milchproben,

deren Fettgehalt bestimmt werden soll, zu konserviren. Dieselben gewinnen mehr und mehr an Bedeutung, je mehr die Milchbezahlung nach Fettgehalt von Sammelmolkereien durchgeführt und die dazu nöthigen Fettbestimmungen in Laboratorien ausgeführt werden, die in den Sammelmolkereien selbst eingerichtet sind oder für mehrere derselben an einem Centralpunkte arbeiten. Das ALEN patentirte Verfahren die Milchproben durch Kaliumbichromat zu konserviren gestattet nach Versuchen des Verf. die konservirte Milch ohne Differenzen im Resultat nach den nachbenannten Methoden zu untersuchen:

Methode	Fettgehalt in Prozenten	
	ohne $K_2Cr_2O_7$	mit $K_2Cr_2O_7$
SOXHLET	4,24	—
THOERNER	4,30; 4,20; 4,32	4,30; 4,20; 4,30
BABCOCK	4,10	4,10
Laktokrit	4,13	4,15
GERBER's Acidbutyrom.	4,20	4,20

HITTCHER hat gefunden, dass die in der angegebenen Weise konservirten Milchproben nach SOXHLET nicht untersucht werden können, weil die Aetherfettlösung nicht genügend abgeschieden werde. Verf. bemerkt aber dazu, dass mehrere Molkereien Fettbestimmungen nach SOXHLET ohne Schwierigkeiten an mit Kaliumbichromat konservirter Milch ausführen. Wenn nur die Milchproben bei Temperaturen unter 15° C aufbewahrt werden und zeitweise die aufgeworfene Rahmschicht untergemischt wird fand Verf. auch nicht, dass ein zäher, schwierig durchzumischender Rahm sich absetzte, wie HITTCHER angiebt. Verf. sieht daher in der Einführung des Kaliumbichromats einen wesentlichen Fortschritt. Andererseits hat schon ALEN angegeben, dass bei zu hohen Temperaturen aufbewahrte konservirte Milchproben bei der späteren Untersuchung ungenaue Resultate gaben, weil entweder eine Zersetzung des Fettes stattfindet oder der Rahm sich nicht genügend vertheilen lässt.

Um das Kaliumbichromat auf seine Konservirungsfähigkeit zu prüfen, stellte Verf. folgende Versuche an.

I. 250 cc Milch mit 3,12 % Fett wurden am 17. Februar mit 0,25 g Chromat versetzt. Die Milch zeigte dann am

21. Februar	3.11 3.14	3.125 % Fett
28. „	3.10 3.13	3.115 „ „
4. März	3.14 3.07	3.105 „ „
9. „	3.10 3.06	3.08 „ „

Als die Milch am 9. März in 40° warmes Wasser gestellt wurde, gerann sie in 20 Minuten.

II. Es wurden in eine Sammelflasche 0,25 g Chromat gebracht und vom 18. Februar bis 4. März zu 13 verschiedenen Malen je 10 cc Milch frisch hineingethan; die Sammelmilch enthielt 3,07 % Fett; die zwischen dem 10. März und 24. April vorgenommenen Fettbestimmungen ergaben 3,04-3,10 %. Als die Milch einen Monat lang nicht geschüttelt war, vertheilte sich der Rahm erst vollständig, als die Milch auf 40° gewärmt wurde, ein in solchen Fällen empfehlenswerthes Verfahren. Die Milch hatte sich also in diesem Versuch 2 Monat ohne zu gerinnen halten lassen und die Fettbestimmung war dabei nicht alterirt worden.

III. In eine Sammelflasche wurden an 5 Tagen zwischen dem 22. Februar und 4. März je 50 cc Milch gebracht und der ersten Probe 0,01 g Chromsäure zugesetzt. Am 11. März gerann die Milch, bis dahin hatte sie sich gehalten und die Fettbestimmungen gelangen ohne Schwierigkeit. Für die Molkereipraxis ist hervorzuheben, dass für 1 kg Milch 0,5 g Kaliumbichromat oder auf 100 cc ½ cc 10 % Chromsäurelösung zur Konservirung genügt.

Durch Kaliumbichromat kann Milch dagegen schwer oder gar nicht vor dem Gerinnen bewahrt werden, wenn sie schon einen gewissen Säuerungsgrad überschritten hat und es kommt vor, dass in Molkereien Proben der Milch mancher Lieferanten trotz des Chromatzusatzes gerinnen. Verf. fand nun, dass in solchen Fällen Ammoniak ein gutes Conservirungsmittel ist. 350 cc Milch wurden mit 1 cc 27 % Ammoniakflüssigkeit am 16. März versetzt und bei 10° aufbewahrt. Am 25. April war der Rahm durch einfaches Schwenken der Flasche leicht zu vertheilen und die Fettbestimmung in der dünnflüssigen Milch, die wie immer mit dem Laktokrit ausgeführt wurde, ergab dasselbe Resultat, wie die mit der frischen Milch vorgenommene.

Die Reaktion der so konservirten Milch war deutlich sauer, bei 50° gerann sie schnell. Von Ammoniaksalzen konservirten kohlensaures und doppeltkohlensaures nicht so gut, wie Ammoniak und Ammoniumnitrat. 60 cc Milch mit 0,25 g Ammoniumnitrat hielt sich vom 17. März bis 25.

April bei 10° gut, der Rahm liess sich leicht vertheilen, die Fettbestimmung gelang ohne Schwierigkeit.

Mit dem zur Milchkonservirung empfohlenen Kaliumpermanganat stellte Verf. erfolglose Versuche an. 100 cc Milch mit 0,2 g Manganat oder mit 1 cc gesättigter Manganatlösung gerannen schnell. Jedoch ist in diesen Versuchen den Angaben von Weibull, der Manganat zuerst empfohl, nicht voll Rechnung getragen, da dieser auf 20 cc Milch 0,1 g Manganat zusetzte und nach einiger Zeit, wenn die Milch hell geworden ist, neues Salz zufügte. Für die Praxis ist dieses Mittel jedenfalls nicht so gut, wie Kaliumbichromat oder Chromsäure, da die Konservirung mit Manganat nur beschränkte Zeit anhält und dann neues Salz zugefügt werden muss. Ueber Versuche mit Ammoniak und Ammoniumnitrat bei Fettbestimmungen in der Molkereipraxis wird Verf. später berichten.

Niederstadt (304) erhielt aus 300 l Milch durch Zentrifugiren etwa 130 g kleisterartigen Milchschmutz. Die Sahne war bakterienreicher als der Schmutz. Das Zentrifugiren bewirkt keine Reinigung der Milch von Mikroorganismen, da 75 °/₀ derselben in die Sahne übergehen, während der Rest in der Magermilch verbleibt. Tuberkelbakterien werden am vollkommensten ausgeschleudert. Cholerabacillen bleiben suspendirt. (Chem. Centralbl.)

Cassedebat (283) fand in verdorbenen Büchsen kondensirter Milch keine Spaltpilze, wohl aber Schimmel, meist Aspergillus niger. Spaltpilze können in der kondensirten Milch nur nach Verdünnung derselben wachsen. Er glaubt nicht, dass der Schimmel die Ursache des Verderbens ist, meint vielmehr, dass physikalisch chemische Vorgänge, Undichtigkeit der Büchse etc. hier im Spiel sind. (Hyg. Rundschau.)

Käsegährungen.

Adametz (277) hat sehr dankenswerther Weise hier seine Aufsätze über die Ursachen und Erreger der abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse, die er in den letzten Jahren in der Milchzeitung erscheinen liess, in Buchform zusammengestellt und wird damit Vielen einen Dienst erweisen. Er war bekanntlich dabei vielfach in der angenehmen Lage, auf eigenen Untersuchungen fussen zu können. Er bespricht 1. Durch mangelhafte chemische Beschaffenheit der Milch verursachte abnormale Reifungsvorgänge. 2. Durch das Auftreten gewisser Färbung charakterisirte abnormale Reifung. 3. Das Blähen oder Gähren der Käse. 4. Bittere Käse. 5. Giftige Käse. 6. Mittel und Wege zur Hintanhaltung abnormaler Reifungsvorgänge beim Käse. Auf Einzelheiten einzugehen müssen wir uns natürlich hier versagen, erwähnt sei nur, dass Verf. im letzten Abschnitt nur die Erscheinung des Blähens der Käse berücksichtigt, weil die anderen Krank-

heitserscheinungen der Käse nur ganz vereinzelt auftreten. Er betont dass es auch hier viel leichter ist der Krankheit vorzubeugen, als ihr, wenn sie schon da ist abzuhelfen. Als Vorbeugungsmittel empfiehlt er die Milch fortlaufend durch die Gährprobe auf Verunreinigung mit gährungserregenden Organismen zu untersuchen und sie im Bejahungsfalle von der Käserei auszuschliessen. Er erwähnt, dass durch strikte Durchführung dieser einfachen Massregel im Sornthal seit Jahr und Tag Käseblähung vermieden wurde. In gleicher Weise ist das Wasser durch Zusatz zu sterilisirter Milch auf Gährungserreger zu untersuchen. Sind blähende Bakterien in der Käsemasse schon vorhanden, so kann man ihre Gasproduktion am besten durch Kälte mässigen. In der niederen Temperatur nimmt das mässig gebildete Gas an der Lochung innerhalb der normalen Grenzen theil und der Milchzucker wird langsam durch verschiedene Bakterien in Milchsäure übergeführt und so der Vergährung unter Gasbildung entzogen. Die Ursache der Blähung kann unter Anderem auch im verwendeten käuflichen Lab liegen, welches manchmal Blähung erregende Bakterien enthält.

Freudenreich (292) versuchte ein Mittel ausfindig zu machen, um das Blähen der Käse zu verhindern. Diese Krankheit ist mit Recht eine der gefürchtetsten, denn man kann wohl annehmen, dass in manchen Jahren wohl fast $^1/_4$ der im Kanton Bern fabrizirten Käse mehr oder weniger starke Blähungserscheinungen zeigt, wodurch dieselben bis zu $^1/_3$ an Werth verlieren. Der Schaden, den die gesammte Käseindustrie dadurch erleidet, kann in manchen Jahren wohl mehrere hunderttausend Franken betragen.

Verf. versucht speziell ob durch Anwendung von Salz blähungserregende Bakterien, wenn sie schon in der Käsemasse vorhanden sind, niedergehalten werden können, da in der Praxis dieses Mittel schon angewendet wird. Die Wirkung des Salzes auf Reinkulturen des Bacillus Guillebeau a und des Bacillus Schafferi[1] illustriren folgende Versuche. In Bouillon mit 5 % Milchzucker entwickelten bei Gegenwart von 1 % Kochsalz Reinkulturen schon nach 6 Stunden reichlich Gas, bei 2 % Salz war die Bouillon nach 6 Stunden trübe, Gasbildung trat erst nach 8 Stunden ein, bei 3 % Salz war Trübung nach 8 Stunden, starke Gasbildung erst am anderen Tage zu bemerken, bei 5 % Salz war die Bouillon nach 8 Stunden noch klar, schwache Gasentwicklung trat erst am folgenden Tage ein, bei 10 % Salz blieb jedes Wachsthum aus. Das Salz wirkt also entwicklungshemmend auf die genannten Bakterien. Bei Versuchen mit Käse durfte nicht über den Salzgehalt normal gesalzener und gereifter Käse (2-4 %) hinausgegangen werden und Verf. wählte daher als Grenze bei seinen Versuchen 3 %. Zuerst setzte Verf. das Salz der Milch vor dem Laben zu, es zeigte sich aber, dass das Dicken der Milch durch das Salz erschwert wird; Verf.

[1]) Koch's Jahresbericht I, 1890, p. 95 u. 96.

ging daher nicht über 0,4-0,5 $^0/_0$ Salz hinaus. Solche Versuche mit Bacillus Guillebeau a zeigten, dass diese Methode keine sicheren Resultate giebt, da auf diese Weise nicht genug Salz hineingebracht werden kann; die behandelten Käse waren zwar weniger, wie die Kontrollkäse, aber doch immerhin gebläht. Verf. versuchte daher weiter auf Anrathen von SCHAFFER das Salz auf andere Weise zuzusetzen. Er versuchte zunächst die ganze Käsemasse in dem Augenblick, wo sie in ein Tuch gefasst aus dem Kessel gehoben wird in ein 50° warmes 20 $^0/_0$ Salzbad 5 Minuten zu tauchen; es zeigte sich aber, dass der Käse dann 4,4 $^0/_0$ Salz enthielt und deshalb die Reifung unterblieb; in 10 $^0/_0$ Salzbad nahm ein kleiner Käse 3,05 $^0/_0$ Salz an und die Reifung blieb zurück; ein grosser Käse nahm dagegen bei gleicher Behandlung nur 0,4 $^0/_0$ Salz an; man hat es also so nicht in der Hand die nöthige Salzmenge überall gleichmässig eindringen zu machen. Auch schien der Teig im Salzbad oft spröde und zerbrechlich zu werden.

Es wurden daher weiter alle Versuche in der Weise ausgeführt, dass 3 $^0/_0$ Salz beim Ausrühren nach der Anwärmung zugesetzt wurden. Das Salz wirkt so auf die ganze Masse ein, die Lösung ist aber nicht so konzentrirt, dass der Teig spröde würde. Der Salzgehalt des Käses beträgt dann 2,5 $^0/_0$, wobei die Reifung normal verläuft. Wird ein Käse aus 10 Liter Milch, der 10 cc Milchkultur von Bacillus Guillebeau a zugesetzt waren, so behandelt, so bläht er nicht und bleibt dauernd normal, während der Controllkäse nach 1-3 Tagen stark gebläht, weich und schwammig war. Führt man aber die Infektion mit 20-50 cc Kultur aus, so ist sie zu stark und die Blähung nur Anfangs zu unterdrücken. Verf. hatte auch Gelegenheit sich in der Praxis zu überzeugen, dass spontan in einer Käserei auftretende Blähungserscheinungen durch das angegebene Verfahren beseitigt wurden.

Aus den vorliegenden Versuchen scheint hervorzugehen, dass ein Salzzusatz die Blähung der Käse verhindern kann, ohne die Reifung zu unterdrücken. Nur muss das nachherige Salzen etwas eingeschränkt werden.

Verf. erhielt nun aber bei Versuchen mit grossen Käsen aus unbekannten Gründen andere Resultate. In einem Falle blähten beide Käse überhaupt nicht, in einem anderen bei stärkerer Infektion nur der behandelte etwas.

Der Verf. möchte aber auf diese mit grossen Käsen erhaltenen negativen Resultate keinen so grossen Werth legen im Hinblick auf die zahlreichen positiven Resultate bei Laboratoriumsversuchen. Er hält es für möglich, dass doch in der Praxis das angegebene Verfahren gute Resultate gebe und erinnert daran, dass nach der Statistik das PASTEUR'sche Schutzimpfungsverfahren gegen Milzbrand vielen Thieren das Leben rette und doch KOCH gezeigt habe, dass geimpfte Schafe sterben, wenn man ihnen mit Milzbrandsporen versetzte Kartoffeln giebt.

Das vom Verf. vorgeschlagene Verfahren ist also folgendes: Nachdem der Käse die nöthige Temperatur von 54-56° erreicht hat, lässt man ihn einen Augenblick stehen und schöpft $^2/_3$ der Molke ab, weil die mit Salz versetzte Molke nicht mehr gut als Schweinefutter zu verwenden ist. Dann setzt man so viel Salz zu, dass man in der im Kessel befindlichen Flüssigheit das Verhältniss von $3\,^0/_0$ bekommt und rührt weiter zu Ende. Der Käse wird dann wie gewöhnlich gepresst und behandelt, jedoch nicht so häufig und so stark gesalzen, wie die gewöhnlichen Käse. Verf. ist weit entfernt dieses Verfahren als ein definitives Mittel gegen die Blähung bezeichnen zu wollen, fordert aber zu praktischen Versuchen auf um über den Werth des Verfahrens zu entscheiden.

Duclaux (286) erinnert daran, dass Fett, wenn es wie in Butter und Käse fein vertheilt ist, sich im diffusen Licht oxydirt, wodurch ein sehr unangenehmer seifiger oder talgiger Geschmack entsteht; man hebt daher Butter und besonders Käse im Dunkeln, im Keller auf oder wickelt sie in undurchsichtiges Material ein. Wichtig sind aber besonders in dieser Richtung auch die „Mikroben", die den Sauerstoff verbrauchen und dadurch die unangenehme Geschmacksveränderung von Butter und Käse aufhalten. Verf. wurde veranlasst diese Verhältnisse neu zu untersuchen, als ein Fabrikant, der um das Reifwerden der Käse hinauszuschieben dieselben Monate lang in einem auf — 2° gekühlten Keller bewahrte und bemerkte, dass sie dann einen sehr deutlichen Seifegeschmack annahmen. Durch diese Behandlung der Käse war nicht nur die erwähnte Bakterienwirkung unterdrückt, sondern es waren auch durch die Kühlanlage die Kellerluft und daher auch die Käse ausgetrocknet, so dass der Sauerstoff leichter in sie eindringen konnte.

Der zur näheren Prüfung dieser seiner Ansicht über das erwähnte Vorkommniss unternommenen Untersuchung lässt Verf. eine Auseinandersetzung über die Mittel zur quantitativen Verfolgung der Veränderung des Fettes unter dem Einfluss der Luft vorausgehen. Diese Veränderung ist erstens eine Verseifung und zweitens eine Oxydation, die zuerst hauptsächlich die Oelsäure, dann aber die ganze Masse angreift. Der Verf. untersucht nun zunächst diese Umwandlungen an Butterproben, die mit oder ohne Zutritt von Licht und Luft bis zu 7 Jahren aufbewahrt wurden. Er findet, dass auch ohne Einwirkung von Bakterien und Sauerstoff die Verseifung ein unvermeidlich, aber langsam wirkender und von den Bedingungen der Aufbewahrung abhängiger Vorgang ist. Derselbe wird lebhafter, wenn gleichzeitig Oxydation statt hat, aber letztere nimmt unabhängig von der Verseifung an Intensität zu, wenn der Sauerstoff leicht in die Butter eindringen und die Fettsäuren schwer sich verflüchtigen können. Bei reichlichem Luftzutritt im Dunkeln verliert die Butter die Buttersäure durch Verdampfung und riecht ranzig. Im Lichte überflügelt die Oxydation die Verseifung und es entsteht deshalb talgiger Geschmack.

Was den Käse anbetrifft, so untersuchte Verf. zunächst ein im Beginn der Reifung stehendes frisches Exemplar und fand per Kilogramm 8 g verseifte Fettsäure auf Buttersäure berechnet. Zweitens untersucht er ein Stück, welches aus dem oben erwähnten auf — 2° gekühlten Keller stammte; dasselbe schmeckte ausgesprochen seifig, besonders auf der der Unterlage anliegenden Seite. Nach Entfernung des Bakterienüberzuges zeigte die Untersuchung der darunter liegenden Schichten, dass die Oxydation sehr weit vorgeschritten war und diese den Käse ungeniessbar gemacht hatte. Die Verseifung ist dagegen sehr wenig vorgeschritten und zeigt 6,27 g Buttersäure per Kilo, während nach einmonatlicher Aufbewahrung im ungeheizten Zimmer 13,4 g vorhanden waren. In dem kalten Keller, wo die Bakterienwirkung möglichst unterdrückt war, schreitet die Oxydation also vor, die Verseifung aber nur sehr langsam.

Ganz andere Resultate ergab die Untersuchung eines unter normalen Verhältnissen ausgereiften Käses. Derselbe war schon etwas überreif und schmeckt etwas trocken und talgig. Ersterer Geschmack dürfte auf eine Vermehrung der verseiften Fettsäure zurückzuführen sein, letzterer eine Oxydationswirkung sein. Der Käse zeigte im Dezember einen Verseifungsgrad von 22,1, im Januar 24,5, im März 42,5 und in der Nähe der Rinde 103 g Buttersäure per Kilo, während wenn alle Fettsäuren verseift gewesen wären, man einen Werth von 330 g Buttersäure hätte erhalten müssen. So hohe Zahlen, wie sie bei diesem Käse beobachtet wurden, finden sich nie bei noch so lange aufbewahrter Butter.

Die Verseifung nahm also merklich unter dem Einfluss gewisser Bakterien zu, während die Oxydation nur wenig gewirkt hatte und offenbar erst dann, als die Bakterien nicht mehr thätig waren. So lange letztere in aktivem Zustande sind, schützen sie also das Fett gegen eine zu intensive Sauerstoffwirkung. Es fragt sich nun auf welche Weise diese Bakterien wirken. Die Verseifung ist eine Aetherbildung, die sich belebt, wenn das eine ihrer Produkte die Buttersäure sich verflüchtigt. Letzterer Vorgang ist im Käse wenig ausgiebig, aber die Bakterien können die Buttersäure durch Verbrennung verschwinden lassen oder indem sie sie an Ammoniak binden. Verf. berechnet, dass in dem in Rede stehenden Versuchskäse ungefähr 5 % der verseiften Fettsäuren an Ammoniak gebunden waren und diese Menge den oben angeführten Zahlen zuzufügen ist. Andererseits findet er, dass die Buttersäure thatsächlich in dem Käse nach und nach verbrannt wird. Vielleicht beleben die Bakterien die Verseifung aber auch durch physiologische Einflüsse, wie es auch Körper giebt, die dasselbe auf chemischem Wege thun. Möglicherweise verseifen die Bakterien das Fett mit Hülfe eines Fermentes und verwenden das abgespaltene Glycerin.

Baumann (280) will in Ergänzung der bisherigen Untersuchungen über Käsereifung den Einfluss der Bakterien auf den normalen Reifungs-

prozess studiren und versucht zu dem Zweck zunächst Lab und Milch zu sterilisiren, um in der so gelabten Milch dann die Wirkung einzelner Bakterien prüfen zu können. Vorversuche über den Bakteriengehalt verschiedener Labpräparate ergaben, dass ein Labpulver dem Liter der mit ihm verkästen Milch 200, ein anderes 1000, ein Labextrakt 281520 Keime zuführen würde, Zahlen, die gegenüber dem Bakteriengehalt der Milch verschwinden, denn auf 1 dieser aus dem Lab stammenden Keime kämen etwa 2000 in der Milch vorhandene Keime. Demnach kann in den der Milch mit dem Lab zugeführten Keimen kaum die Hauptursache der Käsereifung gesucht werden.

Labpulver mit Alkohol zu sterilisiren geht nicht, weil das Lab seine Wirkung völlig einbüsst, ehe die Bakterien abgetödtet sind; durch Aufkochen werden Lablösungen gleichfalls unwirksam. Der Verf. versuchte dann die Sterilisation bei 60^{0} und verschiedener Reaktion, indem er eine schwach saure Lablösung mit steigenden Mengen Soda versetzte. In 12 Stunden verloren die sauren Lablösungen ihre Wirkung völlig; am besten hatten sich die ganz oder nahezu amphoteren Proben gehalten aber auch 60 $^{0}/_{0}$ ihrer Wirksamkeit eingebüsst. In Rücksicht auf diesen beträchtlichen Verlust unternommene Versuche zeigten, dass Temperaturen von 58-59^{0} viel bessere Resultate geben. Eine amphoter reagirende Labprobe verlor in 40 Stunden bei 58,5^{0} nur 50 $^{0}/_{0}$ Wirksamkeit. Es wurde nun amphoteres Lab an sieben Tagen je $4^{1}/_{2}$ Stunden bei 58,5^{0} gehalten und folgendes gefunden:

			Zahl der Keime im cc
Frisches Lab			1407600
Sofort	nach 1. Sterilisirung		10630
24 Stunden	„ „ „	(vor 2. Sterilis.)	31870
Sofort	„ 2. „		—
24 Stunden	„ „ „		40

Bei den Untersuchungen der folgenden Tage wurden nie mehr Bakterien gefunden.

Die Abnahme der Labstärke beim Sterilisiren erhellt aus folgender Tabelle, wobei die Labstärke dadurch ermittelt wurde, dass festgestellt wurde, wieviel Vol. Milch von bestimmten Aciditätsgrade durch 1 Vol. Labextrakt bei 35^{0} in 40 Minuten zum Gerinnen gebracht werden. (Siehe auf folgender Seite.)

Milch, welche mit Lab ein zusammenhängendes, sich langsam zusammenziehendes Gerinnsel bilden soll darf auf 60^{0} 3-4, auf 70^{0} 2 und auf 80^{0} nur $^{1}/_{4}$ Stunde erwärmt werden. Die Versuche mussten mit Marktmilch ausgeführt werden. Magermilch war unempfindlicher gegen Wärmewirkung wie Vollmilch und konnte 3 Stunden auf 70^{0} erhitzt werden.

Da es gelingt 99,5 $^{0}/_{0}$ aller Milchorganismen durch zweistündiges Er-

	Labstärke (1:)	Prozentische Abnahme
Frisches Lab	5000	—
nach 1. Sterilisirung	3930	21.4
„ 2. „	3700	26
„ 3. „	3420	31.5
„ 4. „	3225	35.5
„ 5. „	3050	39
„ 6. „	2825	43.5

wärmen auf 70° zu tödten, so könnte so behandelte Milch statt ganz steriler verwendet werden, wenn die in Bezug auf Käsereifung zu prüfenden Organismen ihr in grosser Menge zugefügt würden.

Die auffälligste Erscheinung bei der Käsereifung ist die Lochung. Daraus, dass diese bei der sehr verbreiteten Herstellung von Schweizerkäse überall im Wesentlichen die gleiche ist und man aus derselben Milch nach Belieben Hartkäse mit Löchern oder Weichkäse mit wenig Löchern herstellen kann, folgert Verf., dass in der Milch immer gasbildende Bakterien vorhanden sein müssen und dass man durch die Bereitungsart der Käse das Wachsthum dieser die Lochung bewirkenden Bakterien fördern oder hemmen kann. Würde man nun in verschiedener Milch denselben gasbildenden Organismus nachweisen und durch Einimpfung desselben in die zu verarbeitende Milch die gewünschte Lochung hervorrufen können so dürfte man nach Verf. diesen Organismus als den eigentlichen Erreger der richtigen Lochbildung im Käse ansprechen dürfen. Da die Lochung in den monatelang reifenden Schweizer Käsen durch die ganze Masse gleichmässig erfolgt, ist anzunehmen, dass die gesuchte Bakterienform anaerobiotisch ist. Verf. mischte daher Milchzuckergelatine mit Milch, vertheilte dieses Gemisch an den Wänden von Röhrchen und goss letztere mit Gelatine aus. Es wuchs dann eine gasbildende Bakterienform, deren Colonien aus den zerschlagenen Röhrchen isolirt wurden. Diese Form bildete dann 0,7 μ breite, verschieden lange unbewegliche Stäbchen ohne Sporen aber mit Kapselbildung und „Polfärbung“, die bei 55° in Bouillon nach 20-25, in Milch nach 40-45 Minuten abstarben. Das gebildete Gas enthielt 63 % CO_2 und verpuffte nach Mischung mit Sauerstoff, enthielt aber keine Kohlenwasserstoffe. Das Casein der mit dieser Form geimpften Milch blieb auch nach Monaten in gequollenem, suspendirtem Zustande, wurde aber bei Siedehitze schon in 3-4 Tage alten Kulturen niedergeschlagen.

Die Milchkulturen enthielten einen brennbaren, Jodoform gebenden Alkohol und flüchtige Fettsäuren, die in mit fettfreien Nährlösungen angesetzten Kulturen fehlten, also wohl aus dem Milchfette stammten. Ausserdem bildete der Bacillus Pepton und Körper, die zwischen den Peptonen und den Eiweisskörpern stehen; er bildet auch Milchsäure. Freilich bleibt

nach diesen Angaben des Verf. über die Säurebildung dieser Bakterienform unverständlich, warum derselbe das Casein nicht zum Ausfallen bringt.

Verf. nennt diese neue Form Bacillus diatrypeticus casei. Er fand sie in mehreren Proben ostpreussischer Mischmilch und auch in zwei Proben normaler Schweizerkäse. Es fragt sich nun, wie er in die Milch gelangt. In den Ausführungsgängen des Euters und in der Luft fand Verf. ihn nicht, wohl aber in Gartenerde, Presshefe, verdorbenen Rapskuchen, Spülwasser, stagnirendem Wasser, altem Fleisch und Kuhkoth. Verf. glaubt daher, dass diese Form von den Thieren mit dem Futter aufgenommen wird und aus dem Koth in die Milch gelangt.

Verf. versucht nun nachzuweisen, dass dieser Bacillus, wenn er einseitig vorherrscht, die Käsegährung nachtheilig beeinflusst; er glaubt, dass auf diese Weise mancher Käsefehler ohne die herkömmliche Annahme gewisser besonderer die Käsebereitung störender Organismen einfacher zu erklären und zu bekämpfen ist. Verf. machte zum Beweise seiner Ansicht drei Versuchskäse; der dazu verwendeten Milch wurde beim ersten Käse Bouillonkultur des B. diatrypeticus vor dem Laben, beim zweiten ausserdem Bouillonkultur nicht gasbildender Milchbakterien zugesetzt, während die dritte Milchportion erst auf 60° 30 Minuten erwärmt, dann abgekühlt und mit B. diatrypeticus versetzt wurde. Käse No. 3 zeigte nach 3 Tagen die grössten, No. 2 die kleinsten Löcher, No. 1 hielt die Mitte.

Hieraus folgert Verf., dass je mehr bei der Käsegährung die nicht gasbildenden Bakterien über die gasbildenden der Menge nach überwiegen, desto kleiner die Löcher werden. Auch in Gelatinekulturen kommt es nicht zur Gasbildung, trotzdem reichlich gasbildende Bakterien vorhanden sind, wenn dieselben durch nicht gasbildende überwuchert werden. Demnach kann man blinde Käse ohne Löcher erhalten, wenn die Bakterien in der Milch schon so vermehrt waren, dass die in der Käsemasse entstehenden Colonien klein bleiben, weil sie durch die Produkte der Nachbarcolonien am Wachsthum gehindert werden. Dass blinde Käse durch Fehlen der gasbildenden Bakterien in der Milch entstehen, hält Verf. höchstens bei hochgelegenen Alpen für möglich. Dass der gasbildende Bacillus gelegentlich während des Nachwärmens der Käsemasse getödtet werden könne erklärt Verf. auch für unwahrscheinlich.

Andererseits können zu stark gelochte, geblähte Käse entstehen, wenn der gasbildende Bacillus nicht durch Stoffwechselprodukte anderer Bakterien an der Ausbreitung gehindert wird, also wenn die frischen Käse verhältnissmässig wenig Bakterien enthalten oder unter diesen die gasbildenden einen hohen Prozentsatz ausmachen. Auch könnten durch zu starkes Nachwärmen beim Käsen die gegen Wärme empfindlicheren nicht gasbildenden Bakterien stärker geschädigt werden, als der B. diatrypeticus

casei. Der bittere Geschmack, den geblähte Käse meist zeigen, ist vielleicht auf die von dem genannten Bacillus aus dem Milchfett abgespaltenen freien Fettsäuren zurückzuführen.

Aus seiner Untersuchung folgert Verf., dass die Herstellung tadelloser Hartkäse weniger von der chemischen, als von der bakteriologischen Beschaffenheit des Futters abhängt. Dass die Herstellung der Schweizerkäse auch heute noch auf den Alpen viel leichter und sicherer gelingt, als anderswo, dürfte daher rühren, dass die Weiden kaum oder gar nicht gedüngt werden, die Kühe nur mit frischem Grünfutter ernährt werden und deshalb im Sommer das gegenseitige Mengenverhältniss der Milchbakterien sich nur wenig ändert. Die diesen Milchbakterien einmal angepasste Käsebereitungsweise kann dann immer die gleichen Produkte liefern. Im Flachlande wird der Bakteriengehalt der Milch wegen der Abänderungen des Futters und der Dünger mehr variiren.

Adametz (275) tadelt an dieser Baumann'schen Arbeit die mangelhafte Berücksichtigung der mikrobiologischen Litteratur über den Reifungs- und Blähungsprozess der Käse. Die Kritik richtet sich namentlich gegen den Baumann'schen Ausspruch, dass Hefezellen oder Bakterien mit der spezifischen Eigenthümlichkeit unerwünschte Gährungen zu veranlassen, für die Erklärung der fehlerhaften Lochung der Hartkäse nicht in Betracht kämen. Der Baumann'sche Bacillus diatrypeticus casei ist eine der vielen weitverbreiteten gährungserregenden Arten, von denen jetzt schon eine genügende Zahl bekannt ist, keinesfalls ist derselbe der alleinige Organismus, der Lochung, abnormales Blähen und die Reife der Hartkäse veranlassen kann. Er ist dem Actinobacter polymorphus von Duclaux ähnlich. (Chem. Centralbl.)

Bochicchio (282) giebt eine Zusammenstellung der bisherigen bakteriologischen Arbeiten über Käsereifung und stellt eigene Untersuchungen über italiänische Käse in Aussicht.

c) Aufnahme freien Stickstoffs, Nitrifikation, etc.

321. **Atkinson, F.,** Contributions to the biology of the organism causing leguminous tubercles (The Bot. Gazette 1893, p. 157; w. 4 pl.). Bestätigung früherer Autoren.

322. **Berg, F. Graf,** Das nitrifizirende Ferment des Bodens (Sitzungsberichte d. Naturforscher-Ges. b. d. Universität Dorpat Bd. X, 1892, Heft 1). Dorpat 1893. — (S. 233)

323. **Berthelot,** Recherches nouvelles sur les microorganismes fixateurs de l'azote (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVI, 1893, p. 842; Annales chim. phys. (6) t. XXX, p. 419). — (S. 230)

324. Bréal, E., Bindung des Luftstickstoffs durch Kresse [Tropaeolum] (Annales agronom. t. XVIII, p. 369). — (S. 228)

325. Conn, W., Free Nitrogen assimilation by plants (Bull. of the Torrey Bot. Club April 1893).

326. Dehérain, P., Sur la composition des eaux de drainage d'hiver des terres nues et emblavées (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, 1893, p. 1041). — (S. 235)

327. Dehérain, P., Le travail de la terre et la nitrification (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVI, 1893, p. 1091). — (S. 234)

328. Dumont, J., et J. Crochetelle, Sur la nitrification des terres de prairie (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, 1893, p. 670). — (S. 233)

329. Fleischer, Ueber Bodenimpfung, ihre Ergebnisse und ihre Aussichten [Vortrag a. d. 8. Wandervers. d. deutschen Landwirthschaftsges. in München 1893; Sitzung der Dünger-Abtheilung am 10. Juni 1893] (Chemikerzeitung 1893, No. 50). — (S. 222)

330. Frank, B., Die Assimilation des freien Stickstoffs durch die Pflanzenwelt (Botan. Zeitung 1893, Abth. I p. 139). — (S. 224)

331. Fruwirth, C., Dreijährige Impfversuche mit Lupinen (Deutsche landwirth. Presse Bd. XIX, p. 6). — (S. 223)

332. Gain, E., Influence de l'humidité sur le développement des nodosités des Légumineuses (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVI, 1893, p. 1394). — (S. 221)

333. Gibson, Howard B., Ueber die Entwickelung von Stickstoff während der Fäulniss (American. Chem. Journal vol. XV, p. 12-18). — (S. 237)

334. Jentys, S., Ueber die Entwickelung freien Stickstoffs während der Gährung der Pferdeexkremente (Bull. de l'académie des sciences de Cracovie 1892, p. 303). — (S. 238)

335. Jentys, S., Ueber den Einfluss des Harns auf die Bildung und Verflüchtigung von Ammoniak während der Gährung fester animalischer Auswurfstoffe (Bull. de l'académie des sciences de Cracovie 1892, Juillet, p. 310). — (S. 238)

336. Koch, Alfred, und P. Kossowitsch, Ueber die Assimilation von freiem Stickstoff durch Algen (Botan. Zeitung 1893, Abth. II, p. 321). — (S. 228)

337. Liebscher, Beitrag zur Stickstofffrage (Journal für Landwirthschaft Bd. XLI, p. 139). — (S. 228)

338. Marchal, E., De l'action des moisissures sur l'albumine (Bull. de la société belge de microscopie 1893). — (S. 238)

339. Marchal, E., Sur la production de l'ammoniaque dans le sol par les microbes (Bull. de l'Acad. royale de Belgique [3] t. XXV, 1893, No. 6). — (S. 239)

340. **Muntz, A.,** und **H. Coudon,** Die ammoniakalische Gährung des Erdbodens (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVI, 1893, p. 395). — (S. 240)

341. **Nobbe, F.,** und **L. Hiltner,** Wodurch werden die knöllchenbesitzenden Leguminosen befähigt den freien atmosphärischen Stickstoff für sich zu verwerthen? (Landwirthsch. Versuchstationen Bd. XLII, 1893, p. 459). — (S. 215)

342. **Petermann, A.,** Contribution à la question de l'azote. Troisième note (Bulletins de l'Acad. royale de Belgique [3] t. XXV, 1893, no. 3). — (S. 220)

343. **Pichard, P.,** Der Einfluss des Verhältnisses von Thon zu Stickstoff im unbestandenen Ackerboden auf die Fixirung von Stickstoff (Annales agronom. t. XVIII, p. 108). [Vgl. Koch's Jahresbericht Bd. III, 1892, p. 220.]

344. **Salfeld,** Die Impfung der gelben Lupine (Deutsche landwirthsch. Presse Bd. XVIII, p. 1033). — (S. 222)

345. **Schloesing, père** et **fils,** Gährungserscheinungen des Stallmistes (Annales agronom. t. XVIII, p. 5). — (S. 236)

346. **Schneider, A.,** The morphology of root tubercles of Leguminosae (The Americ. Naturalist vol. XXVII, 1893, p. 782). — (S. 222)

347. **Schneider, A.,** A new factor in scientific agriculture. University of Illinois. Agricultural experiment station (Champaign. Bull. no. 29, 1893, p. 301, 4 pl.). — (S. 223)

348. **Warington, R.,** Bemerkungen über die Chemie der Bakterien (British Assoc. Section B and D. Nottingham Meeting 1893.) Referat über Winogradsky's Untersuchungen.

349. **Warington, R.,** Ueber die Oxydation des Ammoniaks und die Bildung der Nitrite und Nitrate in Erdböden (Chemical News t. LXVIII, 1893, p. 175). — (S. 233)

350. **Winogradsky, S.,** Sur l'assimilation de l'azote gazeux de l'atmosphère par les microbes (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVI, 1893, p. 1385). — (S. 231)

Aufnahme freien Stickstoffs durch Leguminosen, Bakterien etc.

Nobbe und **Hiltner** (341) glauben nicht an die Richtigkeit der Ansicht das der Leguminose bei der Auflösung der Bakteroiden zu Gute kommende Eiweiss entstehe durch einen Lebensprozess der Bakterien, weil es nicht gelang an Knöllchenbakterienkulturen einigermassen ausgiebige Stickstoffassimilation zu beobachten, weil die Resorption der Bakteroiden lange nach dem Anfang der Stickstoffassimilation beginnt und weil endlich die assimilirte Stickstoffmenge viel grösser als die Körpermasse der Bakteroiden ist.

Die Verf. sind nun hinsichtlich der noch immer offenen Frage wodurch der Knöllchenbesitz die Leguminosen zur Stickstoffassimilation befähigt, zu der Ueberzeugung gelangt, dass die Stickstoffassimilation der Leguminosen mit der Bakteroidenbildung in Beziehung steht. Die Verf. beobachteten, dass Erbsen in stickstofffreiem Medium nach Impfung mit einer im Vorjahre erprobten Knöllchenbakterienreinkultur zwar reichlich kräftige Knöllchen bildeten, aber nicht nur keine Förderung dadurch erfuhren sondern eine geringere Entwicklung als die gar nicht geimpften Erbsen zeigten. Die Knöllchen besassen dabei einige auffällige Eigenthümlichkeiten, sie hatten kein Meristem, erschienen in Folge dessen kugelrund und enthielten fast keine Bakteroiden, wohl aber reichlich Bakterien. Es war also die von Beyerinck als Bakterienüberwucherung bezeichnete Erscheinung eingetreten.

In einem anderen Falle bewirkte eine am 12. Juli mit einer frischen Reinkultur ausgeführte Impfung die übliche Entwicklungssteigerung, während eine Ende Juli mit derselben Reinkultur ausgeführte bei mit Stickstoff gedüngten Erbsen Förderung, bei ungedüngten aber wie oben keine Förderung bewirkte; in letzterem Falle zeigten auch die Knöllchen dieselben abnormalen Eigenschaften wie oben. Einige Pflanzen der letzteren Reihe erholten sich freilich später und wurden besonders kräftig. Die Reinkultur musste also eine Aenderung erlitten haben und die Verf. glauben, dass diese darin besteht, dass die öfter auf frische Erbsengelatine übergeimpfte Kultur dadurch eine bedeutende Steigerung der vegetativen Lebenskraft erfuhr. In Folge dessen wuchsen die Bakterien schneller auf Gelatine, befielen eine grössere Anzahl von Wurzelhaaren und die Knöllchenbildung trat viel früher ein als sonst. Die Bakteroidenbildung ist offenbar auf einen Einfluss der Erbsenpflanze auf die Bakterien zurückzuführen; in den besprochenen Fällen hatte nun dieser Einfluss einerseits eine Abschwächung erlitten durch die Kräftigung der Bakterien, andererseits eine Stärkung durch die in Folge der Stickstoffdüngung eingetretene Kräftigung der Pflanzen. Das Unterbleiben einer Förderung der Erbsen durch die beschriebenen abnormalen Knöllchen dürfte kaum darauf zurückzuführen sein, dass die Bakterien durch fortgesetzte Kultur auf stickstoffhaltiger Gelatine die Fähigkeit der Stickstoffassimilation allmählig verloren hätten, sondern darauf, dass Bakteroidenbildung ausblieb. Die Verf. kommen also zu folgenden Sätzen:

1. Knöllchen, in denen Bakteroidenbildung unterbleibt, erweisen sich für die Wirthspflanze eher schädlich als förderlich; die unveränderten Bakterien verhalten sich gegen die Pflanzen als reine Parasiten, welche von ihren Wirthen bekämpft werden.
2. Die unveränderten Bakterien scheinen mit der Stickstoffassimilation der Leguminosen nicht im Zusammenhang zu stehen.

3. Je lebenskräftiger die Bakterien sind, desto geringer ist ihre Neigung zur Bakteroidenbildung; je kräftiger die knöllchenbesitzenden Pflanzen, desto leichter vollzieht sich die Ueberführung der Bakterien in Bakteroiden.
4. Erst mit der Bakteroidenbildung scheint die Stickstoffassimilation zu beginnen.

Als die Verf. mit frisch aus Knöllchen von Robinia oder Erbse isolirten Knöllchenbakterien Impfversuche an verschiedenen Leguminosen in sterilisirtem Boden und zwar theils stickstofffreiem Sande, theils einem Gemisch aus Sand und Gartenerde machten, zeigte sich, dass einige Leguminosen in stickstoffhaltiger Erde bei Impfung mit beiden Bakterienarten keine Knöllchen erhielten, wohl aber in stickstofffreiem Sande. Die Bakterien haben offenbar in Lupinus luteus und angustifolius, Acacia Lophanta und Julibrissin erst eindringen können, als diese Pflanzen zu hungern begannen. Deshalb sassen die Knöllchen auch nur an Wurzeln höherer Ordnung. Einen ähnlichen Fall haben die Verf. früher berichtet. Lupinenbakterien erzeugten bei Erbsen in stickstofffreiem Sande Knöllchen erst an Wurzeln höherer Ordnung, als Erbsenbakterien; die Lupinenbakterien konnten also erst eindringen, als Hunger eintrat.

Die durch Lupinenbakterien an Erbsenwurzeln erzeugten Knöllchen waren knäuelartig zusammengedrängt; die Möglichkeit in die Wurzeln einzudringen, musste den Bakterien demnach ganz plötzlich wahrscheinlich zu der Zeit, wo der Stickstoffmangel sich zuerst fühlbar machte, geboten worden sein.

An den im Freien wachsenden Pflanzen sind Knöllchen meist nur in den oberen Bodenschichten vorhanden. Im vorigen Jahre[1] haben die Verf. gezeigt, dass Knöllchenbildung auch an tiefgehenden Wurzeln eintritt, wenn dorthin künstlich Bakterien gebracht werden. Als einem Boden aber in allen Schichten reichlich Bakterienemulsion zugeführt wurde, trat doch nur in den oberen Schichten Knöllchenbildung ein. Demnach scheint letztere nur dann in tieferen Schichten beobachtet zu werden, wenn nur dort Bakterien vorhanden sind. Bei gleichzeitiger Gegenwart von solchen unmittelbar unter der Oberfläche des Bodens wird sich zur Zeit, wo empfängnissfähige Wurzeln in die Tiefe gelangen, bereits die fördernde Wirkung der anfänglich gebildeten oberen Knöllchen bemerkbar machen und das Eindringen der Bakterien in die jetzt kräftig ernährten Pflanzen nicht mehr so leicht möglich sein.

Wächst eine Pflanze von vornherein in stickstoffhaltigem Boden, so wird sie besonders im dürftigen Jugendzustand infizirbar sein, mit eintretender Kräftigung wird sie sich aber wie die erwähnten Versuchspflanzen verhalten.

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 206.

Nach dem Obengesagten sind auch folgende Versuchsresultate verständlich. Als in 35 cm hohen Gefässen Bakterien in die obere und in eine 10 cm tiefe Schicht gebracht wurden entwickelten sich Knöllchen in zwei von einander getrennten Regionen, von denen die untere merklich kleinere Knöllchen enthielt; manchmal fehlten sie auch in der mittleren Schicht ganz. Grössenunterschiede der Knöllchen gehen auch parallel dem Stickstoffreichthum des Bodens. Stickstofffreier Boden zeigte bei Vicia villosa und besonders Robinia immer die grössten Knöllchen.

Die Knöllchen von Robinia zeigten in einem Versuche, der mit verschieden stark mit Stickstoff gedüngten Böden ausgeführt war, folgende Unterschiede. Die grossen Knöllchen der nur geimpften und nicht mit Stickstoff gedüngten Pflanzen enthielten neben vollständig unveränderten hauptsächlich solche Bakterien, welche die ersten Stadien der Bakteroidenbildung aufwiesen. Dagegen fehlten in den viel kleineren Knöllchen der gleichzeitig mit Stickstoff gedüngten Reihe Bakteroiden fast vollständig; nur sehr grosse Bakteroiden, die 4mal so lang waren als die der ersterwähnten grossen Knöllchen, waren vorhanden. Verf. erklären diese Beobachtung wie folgt. Im stickstofffreien Boden ging die Umwandlung der in die Wurzeln eingedrungenen Bakterien weniger energisch vor sich, als in dem mit Stickstoff genügend versehenen Boden, die Bakterienvermehrung dauerte deshalb länger und die Knöllchen wurden grösser. Da die Entwicklungsförderung durch die Knöllchen in den stickstofffreien Böden Anfangs viel langsamer vor sich ging und selbst eine kleine Stickstoffgabe die Wirkung der Impfung schon erhöhte, so wird auch durch diese Versuche bewiesen, dass die unveränderten Bakterien die Stickstoffassimilation nicht bewirken und dass diese Assimilation erst mit der Bakteroidenbildung beginnt. Die Stickstoffdüngung hat aber nur Anfangs eine schnellere Entwicklung zur Folge, indem durch sie rascher Bakteroidenbildung ermöglicht wird; dadurch bleiben aber die Knöllchen kleiner und wirken weniger ausgiebig. So zeigten die in stickstofffreiem Boden gezogenen, geimpften Robinia von Mitte August, der Zeit an, wo die vollständige Umwandlung der Bakterien in Bakteroiden vollzogen war, einen grossen Aufschwung und überflügelten schliesslich die gedüngten Pflanzen an Stickstoffgewinn.

Mehrfach beobachteten die Verf. auch, dass Pflanzen in stickstofffreiem Boden trotz Knöllchenbesitz hungerten; dies war meist der Fall, wenn die Knöllchen in einem späteren Entwicklungsstadium der Pflanze entstanden waren, wie z. B. wenn Acacia und Lupinus mit Pisum- oder Robinia-Bakterien geimpft worden waren. Hier hatten offenbar die schon stark hungernden Pflanzen die Umwandlung der Bakterien in Bakteroiden nicht mehr veranlassen können und die Stickstoffassimilation unterblieb daher. Gleichzeitig bestätigt diese Thatsache, dass die oberirdischen Organe Stickstoffassimilation nicht bewerkstelligen, denn diese waren an den erwähnten

Pflanzen noch im Herbste nicht völlig abgestorben; es fehlte ihnen zum Ergrünen nur der von den Wurzeln her zu liefernde Stickstoff.

Bezüglich der Natur und Entstehung der Bakteroiden bleiben die Verf. besonders im Gegensatz zu Frank bei der Ansicht, dass es sich hier um zoogloeaartige Bildungen handele. Bei Beobachtungen an den erwähnten Robinia-Versuchen finden sie, dass die Bakteroiden aus den Bakterien durch mehrfache Theilung ohne nachfolgende Trennung der Einzelindividuen entstehen. Sie bilden ab, dass Kurzstäbchen sich durchtheilen, worauf die Pole der beiden Hälften sich wie unveränderte Bakterien färben, während dazwischen ein farbloser Zwischenraum bleibt. Später wiederholen sich ähnliche Theilungen innerhalb der gemeinsamen Membran; dabei kann letztere Ausbuchtungen nach der Seite erfahren, falls eine Theilung der Inhaltskörperchen nicht in der Längsrichtung der Bakteroiden erfolgt, so dass letztere gegabelt erscheinen. Die Inhaltskörper der Bakteroiden verlieren theilweise ihre scharfe Umgrenzung; sie scheinen dann zu degeneriren und aufgelöst zu werden. Ebenso häufig behalten die Inhaltskörper die Form so deutlich, dass sie nach Befreiung aus der Membran wieder entwicklungsfähig sein dürften. Solche Bakteroiden kommen besonders in Pflanzen, die ihr Laub abzuwerfen beginnen vor und hier findet man auch isolirte, nicht von Bakteroidenhüllen umschlossene Individuen. Vielleicht sollen die Bakterien durch die Membran vor den Einflüssen der Pflanze geschützt werden.

Mit den von Frank und Moeller[1] geprüften cholesterinartigen Einschlüssen der Bakteroiden haben die erwähnten Theilungsprodukte der Bakterien nichts zu thun. Verf. sehen in jenen Einschlüssen ein Zeichen eines in den Bakteroiden unter dem Einfluss der Wirthspflanze sich abspielenden Stoffwechsels.

Die Verf. glauben, dass die bekannte netzartige Anordnung der Bakteroiden in den Knöllchen, die auch ebenso die ganz andersartigen Organismen der Elaeagnus-Knöllchen[2] zeigen, einen Anhalt zur Erklärung des Mechanismus der Stickstoffassimilation giebt. Sie glauben, dass dieser Prozess sein Analogon in der Athmung speziell der Kiemenathmung der Thiere hat. Wenn die Bakteroiden, wie es nach Beyerinck's[3] neuesten Erfahrungen möglich scheint, selbst die Stickstoffassimilation bewerkstelligen, würde ihre Gruppirung in den Knöllchen, vermöge deren sie dem stickstoffhaltigen Medium eine sehr grosse Oberfläche darbieten, jene Fähigkeit nur verstärken. Der Vergleich der Knöllchen mit Kiemen würde noch passender sein, wenn wie Bouquet[4] will, das von den Pflanzen aufgenom-

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 200.
[2]) Ebenda p. 207.
[3]) Ebenda p. 205.
[4]) Journal de l'Agriculture pratique; Centralbl. f. Agriculturchemie 1891, p. 424.

mene und wieder verdunstete Wasser den gelösten Stickstoff an die Pflanzen abgebe. Die Verf. fanden allerdings, dass ihre Robinien in einem Sommer 12 Liter Wasser verdunsteten und 600 mg N assimilirten, wonach 1 Liter Wasser 50 mg N mit sich geführt haben müsste, während Wasser bei 10° C nur 20 mg N absorbiren soll. Da sich die Aufnahme jener 12 Liter auf 5 Monate vertheilt und die im Bakteroidengewebe statthabende Verdichtung des Stickstoffs auf das die Knöllchen umgebende Wasser wohl stickstoffentziehend wirkt, so erscheint den Verf. jene Annahme Bouquet's sehr beachtenswerth. Wichtig für das Verständniss dieser Verhältnisse dürfte das Verhalten der Leguminosen in Wasserkultur sein. Sie bilden hier meist nur in stickstofffreien Lösungen Knöllchen und diese wirken hier viel weniger entwicklungsfördernd als im Boden. Wenn dies daher kommt, dass bei der Wasserkultur im Wasser der Stickstoffaustausch nicht so rasch vor sich geht, wie im kapillaren Boden, so müsste durch Einleiten von Luft oder Stickstoff in das Wasser eine Vermehrung der Stickstoffaufnahme seitens der Knöllchen eintreten. Verf. wollen derartige Versuche ausführen, glauben nach einem Vorversuch an ein positives Resultat derselben und meinen, dass dann die Frage des Mechanismus der Stickstoffassimilation im wesentlichen als gelöst zu betrachten sei.

Petermann (342) fand im vorigen Jahre[1], dass Kulturen von Lupinus luteus, Phaseolus oder Sommergerste in stickstoffarmem, aber Nährsalze und Bodenbakterien enthaltendem Substrat eine starke Stickstofffixirung zeigen, wenn man den Stickstoffgehalt der Pflanzen und des Bodens untersucht und dass dies auch der Fall ist, wenn man die die Kulturen umspülende Luft von Stickstoffverbindungen befreit. Der Verf. verwahrt sich wiederholt gegen die von Anderen ausgesprochene Behauptung, als habe er durch seine Versuche die direkte Stickstoffassimilation durch die Pflanzenzelle bewiesen. Er führte nunmehr die von ihm schon im Vorjahre für die Entscheidung der eben erwähnten Frage als nothwendig erklärten Kulturversuche in sterilisirtem Substrate aus.

Die Kulturgefässe standen zu dem Zweck unter einer 125 Liter fassenden Glocke, durch welche ein Luftstrom geleitet wurde. Das Kultursubstrat wurde in den Töpfen 5 Stunden lang bei 150° sterilisirt, die Samen in Sublimat gewaschen und der ganze, fertig zusammengesetzte Apparat durch einen Chlorstrom sterilisirt. Das Giesswasser wurde sterilisirt und steril auf die Töpfe geleitet; alle Verbindungen waren durch Quecksilber gegen Gasverluste geschützt. Die Versuche gingen vom 11. Juni bis 27. Juli (Tabelle siehe auf folg. Seite).

Der Verf. folgert hieraus, dass der unbepflanzte Boden erst dann Stickstoff fixirt, wenn niedere grüne Pflanzen auf ihm wachsen und dass die im

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 206.

organismenfreien Boden gezogene Gerste keinen freien Stickstoff fixirt. Die knöllchenfreien Pflanzen verwerthen also den freien Stickstoff der Atmosphäre nur durch Vermittelung gewisser Algenarten und dies kann für die Landwirthschaft von allgemeiner Bedeutung werden, wenn erst die günstigsten Entwickelungsbedingungen dieser niederen stickstofffixirenden Organismen bekannt sind. Die Thätigkeit dieser Organismen erklärt auch

No.		Stickstoffgehalt am Anfang g	Am Schluss g
1.	Boden nicht sterilisirt und nicht bepflanzt aber mit grünen und rothen Algen bedeckt. Luft ohne Stickstoffverbindungen.	0,0255	Stickstoffgewinn 0,0039
2.	Boden sterilisirt und nicht bepflanzt. Luft ohne Stickstoffverbindungen.	0,0255	Stickstoffverlust 0,0015
3.	Boden sterilisirt, mit Gerste bepflanzt, Luft ohne Stickstoffverbindungen.	0,1084	Stickstoffverlust 0,0017
5.	Sterilisirter nicht bepflanzter Boden, mit sterilisirtem Wasser begossen, blieb ohne Cryptogamenvegetation. Normale Luft.	0,0438	Stickstoffverlust 0,0008
6.	Boden nicht sterilisirt, mit nicht sterilisirtem Wasser begossen, bedeckt sich nach und nach mit Cryptogamen. Normale Luft.	0,0738	Stickstoffgewinn 0,0031

warum sich der Stickstoffreichthum der Böden trotz der auswaschenden Thätigkeit der Wässer erhält und warum auch in sehr armen Böden bei Zufuhr von nur Kali und Phosphorsäure enthaltenden Düngemitteln befriedigende Ernten erzielt werden.

Gain (332) kultivirt vergleichsweise Leguminosen in kalkhaltigem, sandigen Versuchslande zu Fontainebleau, indem er je eine Parzelle begiesst, die andere nicht, um den Einfluss der Feuchtigkeit auf die Ausbildung der Knöllchen zu beobachten. In den Böden mit verschiedener Feuchtigkeit war natürlich die Verbreitungsfähigkeit der Knöllchenbakterien sehr verschieden und auch die Temperatur, denn feuchter Boden ist viel kühler. Es ergab sich, dass die Feuchtigkeit die Knöllchenentwickelung stark begünstigt. Bei der Erbse z. B. fanden sich im feuchten Boden 5-10mal so viel Knöllchen wie im trocknen und im ersten waren sie 4mal so gross.

An natürlichen Standorten finden sich dieselben Unterschiede.

Trockene Jahre, besonders Frühjahre wirken demnach ungünstig auf Stickstoffassimilation durch Leguminosen, während nach feuchten Jahren viel mehr und allgemeiner verbreitete Knöllchenbakterien sich im Boden finden.

Schneider (346) findet, dass die Wurzelknöllchen der Leguminosen anatomisch mehr einem Stengel als einer Wurzel gleichen; sie entwickeln sich exogen aus einem Meristem, welches die von dem Rhizobium infizirten Stellen umgiebt und von der äusseren Korkschicht trennt. Sie haben ein Gefässbündelsystem, das von dem der Wurzel abweicht. Der Kork bildet sich aus einem echten Phellogen; dasselbe gilt von den bei Phaseolus vulgaris und Amphicarpaea comosa beobachteten Lenticellen. Im Allgemeinen werden die Wurzelknöllchen gegen das Ende der Vegetationsperiode nicht völlig entleert. Verf. hält es sogar für wahrscheinlich, dass der protoplasmatische Inhalt der Knöllchenbakterien überhaupt nicht absorbirt wird, dass die Knöllchen vielmehr im normalen Entwickelungsverlaufe absterben und so die Bakterien frei werden.

Merkwürdige Metamorphosen beobachtete Verf. schliesslich in den Wurzelknöllchen von Phaseolus vulgaris an den Zellkernen; dieselben nehmen hier bedeutend an Grösse zu und erhalten durch zarte Fortsätze eine amöbenartige Gestalt. Später wird die abnorm dicke Kernwandung an einer Seite gesprengt und die austretende Kernsubstanz mischt sich mehr oder weniger mit dem Cytoplasma. Die Nukleolen behalten ihre normale Grösse und Gestalt und verbleiben zum Theil in der Nähe der Kernwandung, zum Theil wandern sie auch in das „Mycoplasma“ (Frank). (Bot. Centralbl.)

Salfeld (344) berichtet über zwei Impfversuche mit gelber Lupine. Der erste auf altkultivirtem, humusarmem, sehr leichten Sandboden, der reichlich mit Kainit und Thomasschlacke versetzt und mit 40 kg Impferde pro Ar gedüngt war, hatte sichtlichen Erfolg; der Ertrag konnte wegen ungünstiger Witterung nicht festgestellt werden. Der entschiedene Erfolg des anderen, auf neukultivirtem Haidesandboden angestellten Versuches zeigte sich nicht nur im ganzen Aussehen sondern auch im Ertrage. Pro Ar wurden ohne Impferde 49,0 kg, mit Impferde 214,685 kg grüne Lupinenmasse geerntet. (Chem. Centralblatt.)

Fleischer (329) berichtet auch, dass nach den Erfahrungen von Salfeld die Leguminosen auf den versumpften stark sauren Moorböden im ersten Jahre höchstens kümmerlich wuchsen, dass aber starke Ertragssteigerung erhalten wird, wenn dem Moorboden Erde zugeführt wird, die vorher reiche Leguminosenernten trug. Salfeld verwendet Warferde d. h. Boden von Erhöhungen in Niederungen, der sehr reich und guter Leguminosenboden ist. Als ein erst vor einem Jahre in Kultur genommener Moorboden mit 4000 kg Warferde pro Hektar überworfen und mit Leguminosen bestellt

wurde, zeigte sich erst nach 50 Tagen, dann aber ein täglich deutlicher werdender Unterschied gegen die unbehandelten Parzellen. Die geimpften Parzellen trugen 67-209 % Körner und 85-117 % Stroh mehr als die nicht geimpften. Die Pflanzen der letzteren zeigten nur sehr wenige Knöllchen. Der Mehrertrag kann nur eine Folge der Impfwirkung nicht der chemischen Wirkung der Dünger gewesen sein, denn die im Impfboden enthaltenen Nährstoffe waren sehr schwer löslich und blieben in der Menge weit hinter den gegebenen Düngerquantitäten zurück. Nach Allem haben wir also in der Impfung für den Hochmoorboden ein ausserordentliches Hülfsmittel für die Kultur gewonnen.

Es genügen auch schon geringere Mengen Impferde, bei Topfversuchen 100 kg pro Hektar. Ein im Vorjahre erst umgebrochener, noch nie gedüngter Boden erhielt 2000 kg Impferde pro Hektar und gab 36 % Mehrertrag an Kleeheu gegenüber dem ungeimpften Boden; die Impfung muss aber geschehen, wenn die Pflanzen noch jung sind.

Auch für Gründüngung ist die Impfung nützlich. Ein mit Roggen und Seradella bestelltes Feld erhielt 1000 kg Lupinenboden pro Hektar und ergab dann 65 kg N in den oberirdischen Theilen der Seradella mehr. Es ist nicht gleichgültig, woher die Impferde kommt. Auf einem Bohnenacker, der mit Bohnenerde gedüngt war, entwickelte sich Seradella sehr schlecht, wenn nicht auch Seradellaerde gegeben war.

Wichtig für den Erfolg der Impfung ist, dass der saure Hochmoorboden vorher gekalkt wird. Bei der Diskussion bemerkt Verf. auf eine Anfrage, dass Versuche im Gange sind, die beweisen werden, dass als stickstoffsammelnde Pflanzen nur Leguminosen anzusehen seien.

Fruwirth (331) fand bei Versuchen in Kästen mit Lehmboden oder bei Beetversuchen mit einer Erde von 16 % Kalk sehr deutliche Wirkung der Impfung bei Lupinen, während bei Kastenversuchen mit einem Boden mit 30 % Kalk der Erfolg nicht so klar war. In den erstgenannten Fällen zeigte sich eine beträchtliche Ertragserhöhung an vegetativen Theilen, während der Samenertrag nur bei einem der geimpften Beete merklich höher war. Ein Doppelzentner Impferde auf 1 Hektar liess schon günstige Wirkung erkennen. (Chem. Centralblatt.)

Schneider (347) ist auf einen sonderbaren Gedanken gekommen. Er will Knöllchenbakterien auf Leguminosenwurzelgelatine ziehen, dann durch successiven Zusatz von immer mehr Gramineenwurzelextrakt zu jener Gelatine und Ueberimpfung auf dieses Gemisch die Bakterien schliesslich an den Gramineenextrakt gewöhnen, dann mit ihnen Gramineen impfen und versuchen, ob man nicht so den letzteren die Stickstoffassimilation der Leguminosen angewöhnen kann. Ein mit Bohnenbakterien und Mais angestellter Versuch ergab natürlich keine Knöllchenbildung am Mais; die geimpften Pflanzen erschienen ein wenig kräftiger als die nicht geimpften, sie hatten

mehr feine Wurzeln und mehr Wurzelhaare. Einige Wurzelhaare, einige Epidermiszellen und manche Parenchymzellen sollen theilweise mit Rhizobium Frankii var. majus erfüllt (??), aber in ihrer Form nicht verändert gewesen sein. (Botan. Zeitung.)

Frank (330) vertritt hier von Neuem seine Ansicht, dass die Fähigkeit der Assimilation des freien Stickstoffs nicht nur den Leguminosen eigen sondern eine allgemeine Erscheinung im Pflanzenreiche oder doch wenigstens eine durch alle Abtheilungen desselben verbreitete sei und stellt zur Stütze dieser Ansicht seine früher schon bekannt gegebenen und neuen Versuche sowie die anderer Autoren zusammen. Er wendet sich in diesem Sinne heftig gegen die berühmten Untersuchungen von Hellriegel und Paul Wagner's Forschungen auf dem Gebiete der Pflanzenernährung. (I. Die Stickstoffdüngung (1892).) Weiter bemängelt er die Arbeit von Kossowitsch[1] in den meisten Punkten der Versuchsanstellung und glaubt, dass derselbe den von ihm aufgestellten Satz, die Leguminosen nähmen den Stickstoff nur mit den Wurzeln auf, nicht bewiesen habe, weil die gefundenen Stickstoffdifferenzen zum guten Theile auf individuelle Verschiedenheiten der Versuchspflanzen zurückgeführt werden können, weil andererseits die Versuchspflanzen höchst kümmerlich gewesen seien in Folge des hermetischen Abschlusses der Wurzeln von der Luft und der Durchleitung eines Sauerstoff-Wasserstoffgemisches.

Seine Ansicht hält Verf. dagegen für bewiesen durch folgende Punkte, die sich meist schon in seinen früheren Arbeiten vertreten finden:

1. Die Leguminosen assimiliren freien Stickstoff, auch wenn sie sich nicht in Symbiose mit dem Knöllchenpilze befinden.
2. Der Symbiosespaltpilz der Leguminosen, getrennt von der Nährpflanze kultivirt entwickelt sich kräftig, wenn ihm eine organische Stickstoffverbindung zur Verfügung steht, vermehrt sich dagegen nur höchst unbedeutend, wenn ihm der Stickstoff nur in elementarer Form geboten wird.
3. Das Quantum von gebundenem Stickstoff, welches in den Wurzelknöllchen angesammelt wird, reicht nicht entfernt hin, um dasjenige Stickstoffquantum zu liefern, welches die reife Leguminose auch auf stickstofffreiem Boden zuletzt in ihrem Samen und den übrigen Theilen ihres Körpers gewonnen hat.
4. Auch die Nichtleguminosen assimiliren freien Stickstoff.

In einer stickstofffreien, Zucker und Salze enthaltenden Lösung, in der Pilze aus zufällig hineingekommenen Keimen sich entwickelt hatten, fand Verf. nach 10 Monaten 0,0035 g organischen Stickstoff, wobei das Volumen der Flüssigkeit 65 cc betrug und hauptsächlich Penicillium cla-

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 193.

dosporioides darin enthalten war. Weiter schliesst Verf. hier die bekannten Versuche von ihm und SCHLOESING und LAURENT über Algen und Moose an.

Bezüglich der Phanerogamen stellt er alte und neue Versuchsresultate hier zusammen:

	Stickstoff		Stickstoffgehalt des Bodens in %		
				nach dem Versuche	
	in Aussaat g	in Ernte g	vor dem Versuche	Versuch mit Pflanzen	Versuch ohne Pflanzen
Avena sativa in Lehmboden 1888. 20 Pflanzen.	0.0142	0.487	0.118	0.131	0.110
Polygonum Fagopyrum in Sandboden 1889. 20 Pflanzen.	0.0070	0.0816	0.0096	0.0178	0.0172
Spergula arvensis in Sandboden 1889. 0,669 g Samen	0.0123	0.1106	0.0096	0.0101	0.0172
Brassica napus in Lehmboden 1888. 40 Körner.	0.0033	0.377	0.118	0.125	0.110
Sinapis alba in Humusboden 1891. 4 Pflanzen.	0.0012	0.4421	0.1862	0.1912	
Sinapis alba in absolut stickstofffreiem Sande 1891. 4 Pflanzen.	0.0012	0.0043	—	—	
Solanum tuberosum in absolut stickstofffreiem Sande 1892. 4 Knollenstücke.	0.022	0.2186	—	—	
Acer platanoides in Sandboden 20. April 1889—Herbst 1890. 10 Samen.	0.0201	0.1688	0.0096	0.0106	

Dass das Plus des Erntestickstoffs nicht durch Aufnahme von gebundenem Stickstoff aus dem Boden, sondern aus dem Stickstoff der Luft zu erklären ist, geht nach Verf. aus den Zahlen hervor, die den Stickstoffgehalt des Versuchsbodens angeben, denn auch diesen findet er infolge der Vegetation vermehrt, was offenbar vorwiegend durch Wurzelrückstände und verweste Blattabfälle bedingt sei. Dies erhelle deutlich aus den ohne Einsaat belassenen Versuchen; die stickstoffreicheren Böden zeigen hier meist einen kleinen Stickstoffverlust, weil organische Stickstoffverbindungen bei ihrer Zersetzung, wie Ammoniak bei der Nitrifikation, einen Theil des Stickstoffs frei werden lassen. Wo vegetationsloser Boden eine

kleine Stickstoffanreicherung aufweist, ist diese nach Verf. auf Rechnung der Erdbodenalgen zu setzen.

Stickstoffanreicherung erhielt Verf. auch als er Sinapis alba in von Stickstoffverbindungen befreiter Luft hielt.

Was die von anderen Forschern erbrachten weiteren Nachweise der Stickstoffassimilation durch Nichtleguminosen angeht, so schiebt Verf. die von SCHLOESING und LAURENT[1] mit einer ganzen Reihe von Pflanzen erhaltenen ungünstigen Resultate darauf, dass diese Verf. die Pflanzen in abgeschlossenem Luftraum kultivirten. Dagegen bestätigen die Versuche von PETERMANN[2] die Ansicht des Verf. Der Forderung PETERMANN's gegenüber, dass dergleichen Versuche in sterilisirtem Boden wiederholt werden müssten, bemerkt Verf., dass er diese Frage hinsichtlich der Leguminosen durch Versuche bejaht habe und dass sie hinsichtlich der Nichtleguminosen weniger Bedeutung habe, da hier keine Symbiose mit Mikroorganismen bestehe. Uebrigens habe er bei Nichtleguminosen in sterilisirtem Boden dasselbe Resultat erhalten. Und immer zeige sich bei dem unbepflanzten Boden, wo die Mikroorganismen allein vorhanden sind, keine oder nur unbedeutende Stickstoffvermehrung des Bodens, während der Versuch bei Intervention einer gut sich entwickelnden Nichtleguminose einen deutlichen Gewinn an Stickstoff ergiebt.

Als Beweis für seine Ansicht führt Verf. auch eine vorläufige Mittheilung LIEBSCHER's[3] an, wonach weisser Senf unter Umständen dreimal soviel Stickstoff sammeln soll, wie Erbsen, Bohnen und Klee. Der Verf. findet weiter, dass auch die Stickstoffproduktion des nie gedüngten Waldes die Richtigkeit seiner Anschauung beweise.

Er wendet sich weiter zu der Frage: Inwieweit wird gebundener Stickstoff (Nitrat), wenn die Pflanzen damit gedüngt werden, von diesen wirklich zur Ernährung verwendet und was ist sonst sein Schicksal im Erdboden? Die Agrikulturchemiker haben mit Unrecht aus der Beobachtung, dass durch steigende Stickstoffdüngung steigende Produktion stickstoffhaltiger Pflanzensubstanz zu erzielen ist, geschlossen, dass das Mehr an Erntestickstoff aus dem Nitratdünger stammt. Der Verf. erinnert dabei an die bekannten Beobachtungen[4] über Denitrifikation und führt eigene Versuche darüber an.

Das Mehr des Erntestickstoffs braucht sich auch nicht direkt substantiell aus dem Mehr des Düngerstickstoffs herzuleiten, wie die Agrikulturchemiker meinen.

Je mehr die junge Pflanze durch kleine Nitratmengen gekräftigt wird,

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 204; III, 1892, p. 208.
[2]) Ebenda III, 1892, p. 206.
[3]) Deutsche landwirthsch. Presse 31. Dezember 1892.
[4]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 226, 227.

desto energischer assimilirt sie dann nach Verf. auch freien Stickstoff. Bei einer Nichtleguminose bleibt, wenn gebundener Stickstoff ganz fehlt, die Entwickelung sehr kümmerlich und die Erwerbung freien Stickstoffs ziemlich unbedeutend. Die Leguminosen haben das voraus, dass sie den gebundenen Stickstoff auch schon bei ihrer ersten Entwickelung entbehren können.

Verf. zeigt dann, dass wenn man die eine Hälfte der Wurzeln einer Keimpflanze in nitrathaltigem, die andere in nitratfreiem Boden zieht, die Wurzelentwicklung in ersterem ungleich kräftiger ist. Hiernach ist nicht zu bezweifeln, dass Nitrat auch indirekt auf die Pflanze wirkt, denn ein stärker entwickeltes Wurzelsystem wirkt auf eine stärkere Entwickelung der oberirdischen Organe zurück, nimmt auch mehr Nährstoffe aus dem Boden auf. Auch die Assimilation freien Stickstoffs kann mit der Grösse des Wurzelsystems steigen, denn der Stickstoff ist im Bodenwasser gelöst und kann auch von den Wurzeln aufgenommen werden.

Der Verf. glaubt daher, dass die Assimilation von freiem Stickstoff bisher unbeachtet bei Stickstoffdüngungsversuchen mitgespielt hat und vielleicht einen grösseren Einfluss hat als man denkt.

Der Verf. vermuthet, dass die Stickstoffassimilation eine allgemeine Eigenschaft des lebenden pflanzlichen Protoplasmas sei und demgemäss nicht ihren Sitz in besonderen Organen habe. Er will damit aber nicht sagen, dass es nicht Pflanzen gebe, die durch Anpassung sich der Stickstoffassimilation entwöhnt haben. Von dieser Anschauung der allgemeinen Verbreitung der Stickstoffassimilation im Plasma ausgehend hat Verf. früher schon[1] versucht in grünen Blättern eine Stickstoffspeicherung und eine ähnliche Auswanderung des Produktes wie bei der Kohlensäureassimilation nachzuweisen. Neue Versuche ergaben wieder, dass Blätter von Lupinus und Lathyrus Abends mehr Stickstoff, wie am Morgen enthielten (8,3 $^0/_0$ Abends, 7,32 $^0/_0$ Morgens oder 8,09 $^0/_0$ Abends, 6,46 $^0/_0$ Morgens). Kossowitsch[2] hat dies dadurch erklären wollen, dass bei Tage durch den Transpirationsstrom Asparagin in die Blätter geführt werde und Nachts zurückwandere; Verf. sieht nicht ein, wie der Transpirationsstrom in dieser Weise wirken könne und bemerkt, dass die Pflanzen doch Nachts auch transpiriren. Wenn abgeschnittene, in Wasser gestellte Blätter nur unbedeutend bis zum Abend an Stickstoff zunehmen, so beweist dies nicht, wie Kossowitsch will, eine Einwanderung von Asparagin in die an der Pflanze sitzenden Blätter, sondern es erklärt sich daraus, dass das Blatt durch das Abschneiden in seiner Lebensthätigkeit geschwächt wird.

Zu bedenken ist bei der Beurtheilung solcher Versuche dass, da die Pflanze auf Trockensubstanz berechnet etwa 50$^0/_0$ Kohlenstoff, aber höch-

---

1) Koch's Jahresbericht I, 1890, p. 125.
2) Botanische Zeitung 1892.

stens 5-7 % N enthält, die quantitative Ausgiebigkeit der Stickstoffassimilation auch viel geringer als die der Kohlenstoffassimilation sein muss. Die vom Verf. ausgeführten Vergleichsbestimmungen des Stickstoffgehaltes der Blätter sprechen aber doch zu Gunsten einer Stickstoffassimilation in den Blättern besonders wenn man bedenkt, dass bei gleichbleibendem absoluten Stickstoffgehalt der Blätter der prozentische Gehalt derselben an diesem Element Abends kleiner sein müsste, weil das Blatt Abends in Folge der Kohlenstoffassimilation schwerer ist als am Morgen.

Liebscher (337) kommt auf Grund von Kulturversuchen mit Hafer und Senf unter anderen zu folgenden Resultaten: 1. Nicht nur gewisse Bodenalgen, sowie die Hülsenfrüchte und Kleearten, sondern auch Hafer und Senf besitzen die Fähigkeit freien atmosphärischen Stickstoff zu fixiren. Wahrscheinlich hat also Frank recht, wenn er die Assimilation des freien N als eine Eigenschaft aller grünen Gewächse betrachtet. 2. Die Assimilation des freien N erhält aber bei allen Pflanzen erst dann eine gewisse Bedeutung, wenn dieselben die Bedingungen zu üppigem Wachstum finden also Wasser, Wärme, Licht und Nährstoffe im Optimum vorhanden sind. 3. Hierzu gehört bei manchen Pflanzen wie bei Hafer, wahrscheinlich auch bei Buchweizen, namentlich aber bei Senf eine reichliche Ernährung mit Nitratstickstoff, die manchen Hülsenfrüchten z. B. den Erbsen und noch mehr der Lupine nicht nur nicht nöthig ist sondern sogar ihre Fähigkeit freien Stickstoff zu sammeln beinträchtigt. — 5. Auch unter günstigen Wachsthumsbedingungen werden vermuthlich nicht alle Pflanzen gleich grosse Stickstoffmengen sammeln können. Der Senf und die Erbsen haben sich bei passender Ernährung in den Versuchen des Verf. vor dem Hafer erheblich ausgezeichnet. Es hängt dies vielleicht damit zusammen, dass der Senf in dem vom Verf. benutzten Vegetationsstadium d. h. bis zur Blüthezeit im Stande ist soviel Stickstoff in der Substanz seiner Stengel und Blüthen aufzuspeichern, dass seine Trockensubstanz im Proteingehalte mit den Samen der Hülsenfrüchte wetteifert. (Chem. Centralbl.)

Bréal (324) fand bei Kulturversuchen mit Tropaeolum erhebliche Stickstofffixirung. Der Grund ist noch aufzuklären. (Chem. Centralbl.)

Alfred Koch und **Kossowitsch** (336) wollen die Beobachtungen von Frank[1], Schloesing und Laurent[2], wonach mit Algen oder Moosen bewachsener Boden sich merklich auf Kosten des freien Stickstoffs der Luft mit Stickstoff anreichert, nachuntersuchen und prüfen, in welcher Weise hierbei qualitativ oder quantitativ die einzelnen Spezies von Algen und Moosen betheiligt sind und ob dabei vielleicht auch die Bodenbakterien eine Rolle spielen. Diese Fragen sind nur durch Versuche mit reinkultivirten Algen

---

[1]) Berichte d. Bot. Gesellschaft 1889, p. 34.
[2]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 204; III, 1892, p. 208.

zu entscheiden, die die oben genannten früheren Autoren nicht ausführten und die die Verf. nun in Gang setzten. Vorerst theilen sie aber hier die Resultate einiger Vorversuche mit, die sie zur Prüfung der Angaben der früheren Autoren, Erprobung der geplanten Versuchsanstellung und eigenen Orientirung unternahmen. Sie verwendeten grosse Erlenmeyer'sche Kolben, auf deren 16 cm Durchmesser haltenden Boden eine dünne Schicht von 60 g reinen Glassandes sich befand, der mit Nährsalzen und einer Aufschwemmung von Algen, die sich auf einem auf dem Felde lagernden Haufen Kalk fanden, begossen wurde. In dieser Weise wurde es möglich eine so kleine Menge Substrat zu nehmen, dass dasselbe in toto zur Stickstoffbestimmung verwendet werden konnte, und demselben trotzdem eine möglichst grosse Oberfläche zu geben. Die Versuche liefen von Mitte August bis Ende November, waren mit den von Alfred Koch[1] beschriebenen, mit Schwefelsäure gefüllten U-rohren verschlossen und wurden mit von Stickstoffverbindungen befreiter Luft gelüftet. Der Stickstoff wurde zuletzt nach Kjeldahl bestimmt. Einige Kulturen erhielten 0,05 g Traubenzucker, weil derselbe nach Beyerinck besseres Wachsthum der Algen veranlasst.

Die in der folgenden Tabelle niedergelegten Zahlen bestätigen die Resultate der früheren Autoren. In den im Lichte gehaltenen Kulturen

No.	Sand g	N mg		
Control-analyse A	30	4.76		Vor Analysirung der Kulturen ausgeführt
„ B	30	4.76		
„ C	32.38	2.62	5.12	
	28.65	2.50		
Kultur 5	32.86	2.98	4.65	Im Dunkeln gehalten
	26.38	1.67		
„ 10	32.36	2.95	5.09	
mit Zucker	25.62	2.14		

No.	Sand g	N mg		
Kultur 8	31.37	3.09	5.65	Im Lichte gehalten
	27.70	2.56		
„ 6	30.01	2.86	6.19	
	32.31	3.33		
„ 9	33.05	3.81	6.67	
mit Zucker	28.46	2.86		
Kultur 7 zuerst im Dunkeln	31.22	2.97	5.23	
	28.63	2.26		
Control-analyse D	30	5.12		Nach Analysirung der Culturen ausgeführt
„ E	30	5.12		

stand der Grad der Stickstoffanreicherung im geraden Verhältnisse zur Ausgiebigkeit der Algenentwickelung. In den im Dunkeln gehaltenen

[1]) Vgl. Ref. p. 16.

Kulturen, in denen also keine Algen sich entwickelt hatten, war auch kein Stickstoff fixirt worden.

Ueber die Versuche der Verf. mit Algenreinkulturen vergleiche man den nächstjährigen Bericht.

Berthelot (323) isolirte aus Gartenerde einige Bakterien und untersuchte, ob sie freien Stickstoff assimiliren.

Als Substrat wurden Gemenge von Humussäure, Kaolin, Weinsäure, Zucker und COHN'scher oder einer anderen Nährlösung verwendet; sie mussten wenig Stickstoff und für Monate genug Kohlenstoff für die zu untersuchenden Organismen enthalten. Man darf die Kulturschicht auch nicht zu dünn machen, weil bei zu reichlichem Sauerstoffzutritt die Organismen keinen Stickstoff fixiren. So zeigten Versuche in 6 Liter fassenden Kolben keine Stickstofffixirung oder Stickstoffverlust, während in Kolben von 500-1000 cc Stickstofffixirung eintrat. Die Kultursubstrate wurden sterilisirt, besäet und $3^1/_2$ Monat bei 20-25° gehalten.

Bakterienart	Substrat	Volum des Kulturgefässes	Stickstoffgewinn in % des ursprünglichen Stickstoffs
Gemisch	Humussäure	1 Liter	57
„	„	6 „	Kleiner Verlust
„	Humussäure und Kaolin	1 „	52
„	„	6 „	0
„	Kaolin	1 „	150
„	„	6 „	32
A	Humussäure Kaolin COHN'sche Lösung	1 „	80
„	„	600 cc	44
Unbesäet	„	„	0
B	„	6 Liter	Zweifelhaft
„	„	1 „	Zweifelhaft
„	Kaolin, Zucker, Humussäure	600 cc	Zweifelhaft
E	Kaolin, Humussäure, COHN'sche Lösung	1 Liter	74
„	Kaolin, Zucker, COHN'sche Lösung	600 cc	37
F	Humussäure oder Zucker mit Kaolin und COHN'scher Lösung	600 cc bis 6 Liter	0

Manche aber nicht alle Bodenbakterien fixiren also Stickstoff.

Lupinenknöllchenbakterien auf Humussäure mit COHN'scher Lösung

kultivirt sollen in 4 Monaten auch 50 % Stickstoff fixirt haben, leider wurden die Versuche aber nur mit zerdrückten Knöllchen angestellt. Aspergillus niger fixirte 22-37 %; in diese Versuche hatten sich aber andere Schimmelpilze eingeschlichen. Alternaria tenuis fixirte 36-98 %. Bis zu 143 % fixirte eine ziemlich reine Kultur von Gymnoascus.

Die hiernach stickstofffixirenden nicht grünen Organismen brauchen eine vorgebildete kohlenstoffhaltige und etwas stickstoffhaltige Nahrung; wenn sie aber von letzterer reichlich haben, so leben sie auf deren Kosten und fixiren kaum freien Stickstoff. Unter natürlichen Verhältnissen werden die höheren grünen Pflanzen die kohlenstoffhaltige Nahrung, die die kleinen stickstofffixirenden Formen brauchen, immer wieder ersetzen und beide Gruppen ergänzen sich also, wobei sie unabhängig von einander oder in Symbiose leben wie Leguminosen und Knöllchenbakterien; die Stickstofffixirung geht aber immer von den kleinen Organismen aus.

Winogradsky (350) will unsere Kenntnisse bezüglich der Stickstofffixirung im Boden dadurch vertiefen, dass er nach bestimmten Species stickstofffixirender niederer Organismen forscht, während die bisherigen Autoren nur mit Gemengen verschiedener Organismen arbeiteten. Die Kulturen wurden in peinlich von Stickstoff befreiten Mineralsalzlösungen unter Zusatz von reiner Dextrose ausgeführt.

Die Gefässe standen unter auf matten Glasplatten dicht aufsitzenden, abgeschliffenen Glocken, in die die Luft nur durch mit Kali und Schwefelsäure gefüllte Waschflaschen eintreten konnte. Oder es wurden besondere Gefässe mit eingeschliffenem Stopfen verwandt, in die ebenfalls nur gewaschene Luft eintreten konnte. Die Kulturen zeigten bald konstante Charaktere: Gasentwickelung, Bildung von Säure, hauptsächlich Buttersäure, Auftreten warziger Zoogloeen, die Gasblasen enthielten, so lange Zucker in der Kultur vorhanden war. Diese Zoogloeen bestanden aus einem grossen, sporenbildenden Bacillus, der sich in kräftiger Entwickelung befand, während die neben ihm noch vorhandenen Organismen offenbar in leidendem Zustande waren. Den erwähnten grossen vorherrschenden Bacillus konnte Verf. bisher auch auf Kieselsäure nicht rein kultiviren; zwei andere in den Kulturen nebenbei vorhandene Bacillen entwickelten sich in stickstofffreien Kulturen gar nicht, wohl aber sobald eine Spur von Ammoniak zugegen war; sie entwickelten beide weder Gas noch Buttersäure, so dass sie unfähig zu sein scheinen, freien Stickstoff zu assimiliren, wohl aber sich in Flüssigkeiten, die sehr arm an gebundenem Stickstoff sind, entwickeln können.

Der oben erwähnte vorherrschende grosse Bacillus bildet 1,2 μ breite, viermal so lange, unbewegliche Stäbchen, die bei der Sporenbildung zu einem länglichen Ellipsoid aufschwellen; in diesem Zustand färbt Jod die Zellen schwarz, wobei die beiden Pole ungefärbt bleiben. Wenn die Spore

reif ist, öffnet oder erweitert sich die Mutterzelle an einem Ende sackförmig und zerfällt weiter nur sehr langsam. Dieser Organismus ähnelt also sehr dem Bacillus butylicus FITZ und anderen Buttersäuregährungserregern.

Zur Stickstoffbestimmung, die meist nach KJELDAHL ausgeführt wurde, verwendete Verf. die ganze Kulturmenge. Die Säurebestimmung wurde mit unterschwefligsaurem Natron nach Zusatz von Jodkalium und jodsaurem Kalium ausgeführt, Versuch 14 und 15 wurden mit Natronkalk analysirt.

Zur Zersetzung eines Grammes Dextrose waren mindestens 3-5 Tage nöthig.

No.	Zugesetzte Dextrose g	Zugesetzter Stickstoff mg	Gefundener Stickstoff mg	Stickstoff-zunahme mg
1	1	—	3.0	3.0
2	1	—	2.3	2.3
3	1.5	—	4.5	4.5
4	6	—	10.4	10.4
5	3	—	8.9	8.9
6	?	—	7.2	7.2
7	1	—	2.7	2.7
8	1	2.1	4.5	2.4
9	3	—	8.1	8.1
10	6	—	12.8	12.8
11	7	—	14.6	14.6
12	4	2.1	10.5	8.4
13	?	2.1	7.7	5.6
14	4	2.1	16.4	14.3
15	5	3.0	15.5	12.5
16	2	—	3.1	3.1
17	2	—	2.9	2.9
18	2	—	2.5	2.5
19	2	1.8	3.5	1.7
20	2	4.0	4.6	0.6
21	2	3.3	4.1	0.8

Ob die Grösse der Stickstoffassimilation in einer direkten Beziehung zur verbrauchten Zuckermenge steht, oder jene Assimilation auch auf Kosten anderer organischer Substanzen, die z. B. im Boden vorhanden sind vor sich gehen kann und welches die günstigsten Kulturbedingungen hinsichtlich der Stickstoffassimilation sind, bleibt weiteren Studien vorbehalten.

Berthelot bemerkt hierzu, dass diese Arbeit hinsichtlich Methode und Resultaten grosse Analogie mit seiner Mittheilung zeige (siehe vor. Ref.) und dass die von ihm vor 8 Jahren eingeführte Lehre von der Stickstoffassimilation durch niedere Bodenorganismen nun mehr und mehr vertieft werde.

Nitrifikation.

Warington (349) erwähnt, dass die Oxydation des im Boden enthaltenen Ammoniaks das Werk zweier Mikroorganismen ist, deren einer Ammoniak oder ähnliche Körper nur zu salpetriger Säure oxydiren kann, während der andere nur aus salpetriger Säure, nicht aber aus Ammoniak, Aminen etc. Salpetersäure bilden kann. Als kohlenstoffhaltige Nahrung bedürfen diese Organismen nur Karbonate oder Dicarbonate[1]. (Nach Wochenschr. f. Brauerei).

Dumont und **Crochetelle** (328) gehen von der Erfahrung aus, dass Wiesenboden nur wenig Nitrate enthält. Die Abwesenheit kräftiger Nitrifikation erklärt auch die Aufspeicherung stickstoffhaltiger Substanz im Wiesenboden und sie ist umsomehr zu bedauern, als gerade Gräser für Nitrate sehr dankbar sind. Vielleicht zeigen Wiesenböden die für Nitrifikation günstige schwach alkalische Reaktion nicht und Verf. versuchen daher ihnen diese zu ertheilen. Sie finden, dass die Nitrifikation humusreicher Böden durch 2-3 $^0/_{00}$ kohlensaures Kali belebt wird, stärkere Dosen sind schädlich. 7-8 $^0/_{00}$ schwefelsaures Kali beleben auch noch die Nitrifikation. Chlorkalium wirkt nur mittelmässig, kohlensaures Natron gar nicht. Durch Feldversuche wollen die Verf. die Art der Anwendung des schwefelsauren Kalis näher feststellen.

Berg (322) knüpft an die neueren Untersuchungen über Nitrifikation folgende Ausführungen hinsichtlich der Salpeterbildung im Ackerboden. Der Ackerboden soll reich an Stoffen sein, aus denen sich Ammoniak bilden kann; der Sauerstoffzutritt muss durch Lockerung des Bodens gesichert werden. Kalk, Kali, Natron oder Magnesia müssen vorhanden sein. Die Vorgänge im Boden müssen doch anderer Natur sein, wie die in den bekannten Versuchen von Winogradsky etc., weil im Boden trotz reichlicher Anwesenheit von organischer Substanz der Stickstoff in Nitrat übergeführt wird, während in Kulturversuchen mit Lösungen bei Gegenwart von organischen Substanzen leicht andere Bakterien die nitrifizirenden überwuchern.

Die ungünstige Wirkung von Jauche und frischem Dünger auf die Pflanzen glaubt Verf. auf ungenügende Nitrifikation dieser Stoffe zurückführen und vielleicht dadurch heben zu können, dass die Jauche mittelst Filtration durch Ackererde theilweise nitrifizirt würde. Ein Zusatz von Phosphaten wäre wohl sehr förderlich für die Nitrifikation. In der Landwirthschaft muss die Nitrifikation besonders während des Wachsthums der

---

[1]) Koch's Jahresbericht I, 1890, p. 101; II, 1891, p. 210.

Pflanzen begünstigt werden, damit die Pflanzen das Nitrat gleich aufnehmen können. Denn da das Nitrat leicht zersetzlich ist und leicht diffundirt, so ist es nicht vortheilhaft dasselbe im Boden anzusammeln. Nur vor der Aussaat der Kulturpflanzen sollte eine gewisse Anhäufung des Nitrats im Boden behufs Treiben des Keimlings stattfinden. (Bot. Centralbl.)

Dehérain (327) zeigt, dass wenn auch die Nitrifikation eines Bodens im Verlaufe des ganzen Jahres genug Salpeterstickstoff liefert, um die Bedürfnisse der Kulturpflanzen zu decken, doch eine Chilisalpeterdüngung nothwendig wird, weil manche Kulturpflanzen die Nitrate nur im Frühjahr, andere im Frühjahr und Sommer assimiliren und jedenfalls die Nitrifikationsprodukte des Herbstes und Winters ungenutzt im Drainagewasser weglaufen. Es wäre daher sehr gut, wenn man die Nitrifikation im Frühjahr soweit steigern könnte, dass der Bedarf der Kulturpflanzen an Nitrat dadurch allein gedeckt würde.

Der Verf. findet nun weiter, dass ihm zugesandte Erdproben auffallend stark nitrificiren und dass dies im Verlauf weniger Monate sehr nachlässt, z. B.

	Salpeterstickstoff in cbm Drainagewasser 1890	1891
Erde von Wardrecques	116 g	33 g
Erde von Blaringhem	108 g	39 g

Die Erklärung hierfür vermuthet er in einem früher von Schloesing betonten Umstand, nämlich der Durcharbeitung des Bodens, die in den eben erwähnten Fällen bei der Probenahme geschah und wodurch die Bakterien im Boden vertheilt und so zu lebhafterer Thätigkeit angeregt würden. Zur Prüfung dieser Vermuthung benutzte er Erde, die in Versuchsgefässen seit 2 Jahren stand, setzte den Inhalt der Hälfte dieser Gefässe der Luft während 6 Wochen aus und arbeitete sie von Zeit zu Zeit durch. Nachdem die Erde dann wieder eingefüllt war, wurde sie sofort untersucht und Salpeterstickstoff in 100 g Erde in mg gefunden:

	Erde von Grignon		Erde von Marmilhat		Erde aus Palbost	
	nicht durchgearbeitet	durchgearbeitet	nicht durchgearbeitet	durchgearbeitet	nicht durchgearbeitet	durchgearbeitet
No. 1	2	44	2	51	2	71
„ 2	3	39	2	46	2	57

Nach 2-3 Monaten gaben die Erden Salpeterstickstoff im cbm Drainagewasser:

Nicht durchgearbeitet	18,8 g
Durchgearbeitet	1340,0 g

Weiter findet er, dass die Nitrifikation im Boden in verschiedenen Monaten sehr verschieden stark ist. Proben desselben Bodens nitrificirten im November sehr energisch, im Januar und März höchstens halb so stark. Genaueres hierüber müssen weitere Untersuchungen lehren.

Auf Grund seiner Analysen berechnet er, dass, wenn der Ackerboden im November bei starker Durcharbeitung und Zerkleinerung so stark nitrificirte, wie die erwähnte, im November genommene Bodenprobe, weit mehr Salpeter gebildet wurde, als irgend eine Kultur verbrauchen könnte und der Ueberschuss ungenutzt ausgewaschen würde. Dagegen nitrificirt der stark durchgearbeitete Boden im März auf Grund des Verhaltens der oben erwähnten Probe genügend stark. Demnach muss man den Acker im Herbst behufs Aufnahme der Winterfeuchtigkeit umbrechen, aber nur in grossen Schollen, um die Nitrifikation nicht zu gross werden zu lassen, im Frühjahr dagegen muss man ihn möglichst zerkleinern und besonders bei Kultur anspruchsvoller Pflanzen dahin streben, diese Zerkleinerung und damit die Intensität der Nitrifikation auch nach dem Aufgange mit Hülfe von noch zu verbessernden Maschinen möglichst zu steigern.

Dehérain (326) zeigt, dass während des Winters (November bis März) Böden einen grossen Theil des Wassers, welches sie erhalten, abfliessen lassen und dass dieses Wasser, obwohl es in dieser kühlen Jahreszeit weniger Nitrate enthält, doch noch ziemlich reich daran ist. Im Sommer enthielt der Cubikmeter Drainwasser aus Brache 145, im Winter 92 g Salpeterstickstoff im Mittel; die in den einzelnen Monaten gefundenen Mengen schwanken aber sehr, z. B. enthielt der Cubikmeter im Dezember 183 und 157 g, im kalten Januar 9-11, im milden Februar 78 g, im März 116 g Salpeterstickstoff. Diese Zahlen beziehen sich indessen auf Erde in Versuchskästen; auf den Hektar berechnet hätte diese Erde im Winter 1892/93 81,85 und im ganzen Jahre 221,8 kg Salpeterstickstoff verloren, während Lawes, Gilbert und Warington angeben, dass brachliegendes Feld im Mittel 47 kg im Jahre verliert. Die grösseren Zahlen, die Verf. erhielt, erklären sich nach seinen sonstigen Versuchen (s. vorstehendes Ref.) aus der häufigen Durcharbeitung seiner Erde.

Der Verf. findet weiter, dass ein mit Raygras besäeter Versuchskasten im Winter nur 10,3 kg Stickstoff im Drainwasser verlor, der brachliegende Kasten aber 81,185 kg und er findet dies dadurch erklärt, dass die Wurzeln und Stengel die Nitrate als solche im Winter für den sommerlichen Verbrauch speichern. Hierauf ist neben der Thätigkeit stickstofffixirender Mikroorganismen auch die Thatsache zurückzuführen, dass Boden, wenn

er als Wiese behandelt wird, sich gegen vorher successive mit gebundenem Stickstoff anreichert.

Aehnlich wie Wiesenpflanzen wirkt Wintergetreide, dessen Wurzeln schon im Winter eine ansehnliche Länge erreichen. Es geht aus dem Gesagten hervor, wie wichtig es ist, die Erde nur möglichst kurze Zeit unbewachsen zu lassen. Die krautigen Pflanzen wirken auch insofern stickstofferhaltend im Boden, als sie die Hauptmenge des Regenwassers nicht in den Boden gelangen lassen.

Zersetzung stickstoffhaltiger Substanzen.

Schloesing père et **fils** (345) haben untersucht, welchen Antheil die rein chemische und die physiologische Verbrennung an der Zersetzung des Stallmistes bei verschiedenen Temperaturen hat. Zu dem Zweck wurde sterilisirter Mist einerseits, mit Mikroorganismen inficirter andererseits durchlüftet und die austretenden CO_2mengen verglichen. Wurde die Impfflüssigkeit eingerührt, so war die Gährung sofort sehr heftig, wahrscheinlich in Folge der Oberflächenerneuerung und der Zerkleinerung des Mistes beim Einrühren. Deshalb wurden nachher die Keime aus Flaschen mit unsterilisirtem, trockenen Mist durch einen Luftstrom übertragen.

Die folgende Tabelle giebt die in 24 Stunden entwichene CO_2 in Grammen bezogen auf 1 kg trocknen Pferdemist, I bedeutet ungeimpft, II geimpft, die unter T stehenden Zahlen geben die Anzahl der Tage an.

T	65.5°		T	79.5°		T	73°		T	72,5°		81°	
	I	II		I	II		I	II		I	II	I	II
2	—	33.8	1	2.8	3.7	2	1.3	1.4	2	2.3	9.8	3.9	4.1
3	1.1	26.0	2	2.3	2.1	4	1.1	5.3	3	2.9	14.6	2.8	2.8
4	0.9	22.2	4	1.8	1.9	5	0.9	5.9	4	1.9	29.8	2.6	2.4
5	1.3	18.6	5	1.4	1.5	7	0.8	5.2	6	1.4	20.7	2.1	2.4
						28	0.8	2.0	15	1.4	8.3	1.4	1.4

Der geimpfte Theil hat also bei 65,5° beträchtlich mehr CO_2 entwickelt, bei 79,5° hat das Leben der Mikroben ein Ende, bei 73° zeigt sich ihre Wirkung noch deutlich. Verbrennliche Gase wurden nicht gebildet.

Ebenso wurde die anaerobiotische Gährung untersucht, indem ein Stickstoffstrom durch die Gefässe geleitet wurde. Die in 24 Stunden gebil-

deten Gasmengen sind auf 1 kg trocknen Mist bezogen und in Litern angegeben.

T	Sterilisirt 52°			Geimpft 52°			Sterilisirt 66°			Geimpft 66°		
	CO_2	CH_4	H	CO_2	CH_4	H	CO_2	CH_4	H	CO_2	CH_4	H
5	0.07	0	0.01	1.33	0.11	0	0.21	0	0.04	1.25	0	0.04
12	0.19	0	0.03	1.96	1.81	0	0.52	0	0.20	0.63	0	0.34
17	0.16	0	0.02	1.68	1.61	0	0.40	0	0.16	0.42	0	0.17

Hiernach scheint die Sumpfgasgährung bei 66° nicht mehr stattzufinden. Bei 52° ist in den geimpften Gefässen die Gasentwicklung viel grösser als in den sterilisirten.

Weitere Versuche betrafen die Frage, ob der Mist während der Sumpfgasgährung freien N verliert. In den aufgefangenen Gasen fand sich niemals freier N. Offenbar findet eine Zersetzung des Wassers statt, indem dasselbe dem Kohlenstoff Sauerstoff und dem N Wasserstoff liefert. Das Wasser spielt dieselbe Rolle wie der Natronkalk bei der WILL-VARRENTRAPP'schen N-Bestimmung. Aller N der organischen Substanz, der sich bei der Gährung entwickelte, entwich als NH_3 und deshalb fand sich kein freier N in den Gährungsprodukten. (Chem. Centralbl.)

Gibson (333) liess mageres Fleisch und Blutserum bei reichlichem Luftzutritt bei Zimmertemperatur faulen.

		Versuchsdauer Tage	N verlust pro Tag mg
1.	Fleisch	63	0.09
2.	Serum	167	0.16
3.	„	168	0.10
4.	„	87	0.20
5.	Fleisch	98	0.15
6.	„	126	0.06
7.	„	122	1.26
8.	„	84	1.45
9.	„	82	1.20

Versuch 7 wurde mit fauligem Fleischwasser und Bodenaufguss, die übrigen nur mit ersterem infizirt. Der angegebene N verlust bedeutet die

Differenz zwischen dem Ngehalt der Substanz am Anfang und Ende des Versuchs; flüchtige stickstoffhaltige Verbindungen wie Indol, Skatol, wurden in conc. Schwefelsäure zurückgehalten und durch Zurechnung des Stickstoffs derselben der Verlust verringert. Nitrate und Nitrite wurden in den Fäulnissprodukten nicht gefunden. Da in Versuch 8 und 9 die Versuchsdauer nur zwei Drittel von der in Versuch 7 war und der tägliche Stickstoffverlust in allen drei Versuchen annähernd derselbe war, kann nicht vorherige Nitrifizirung die Ursache des Nverlustes sein, weil sonst bei Versuch 7 Salpeter- oder salpetrige Säure hätte gefunden werden müssen. Der in allen Versuchen stattfindende N verlust war bei Impfung mit Bodenaufguss grösser als bei solcher mit Fleischwasser. Ersterer muss also Mikroorganismen enthalten, die die N abspaltung stärker befördern. (Chem. Centralbl.)

Jentys (334) zeigt, dass bei der Gährung der Pferdeexkremente freier Stickstoff entweichen kann. Dass dies nicht immer geschieht, kann in der Verschiedenheit der jeweils in den Exkrementen vorhandenen Stickstoffverbindungen seinen Grund haben; das Auftreten freien Stickstoffs dürfte von der Anwesenheit spezifischer Gährungsorganismen abhängen. Die Stickstoffentwickelung ist nicht auf die Gegenwart vorgebildeter Salpetersäure zurückzuführen. Bei Abschluss des Sauerstoffs hätte sich sonst mehr freier Stickstoff bilden müssen, es war aber das Gegentheil der Fall. Bei der Gährung der festen Exkremente ohne Sauerstoffzutritt waren weder Stickstoffverluste noch Auftreten freien Stickstoffs zu beobachten. (BIEDERMANN's Centralbl.)

Jentys (335) findet Folgendes:

1. Die Gegenwart von Harn scheint die Umwandlung der in den festen Exkrementen enthaltenen Stickstoffverbindungen nicht zu begünstigen.
2. Die Verflüchtigung des Ammoniaks während der Gährung der gemischten Exkremente hängt von den Mengenverhältnissen ab, in welchen die flüssigen und festen Exkremente zu einander stehen. Je mehr Urin vorhanden ist, um so heftiger wird die Ammoniakentwickelung.
3. Die in Zersetzung begriffenen festen Auswurfstoffe vermindern bis zu einem gewissen Grade die Verflüchtigung von Ammoniak, welches durch Gährung des Urins entsteht; dieses Ammoniak wird sowohl durch Säuren gebunden, welche bei der Zersetzung entstehen, als auch durch Mikroorganismen. Es ist wohl möglich dass der Grad der Verdünnung des Urins einigen Einfluss auf die Verflüchtigung des Ammoniaks ausübt und dass dieser Stoff ganz zurückgehalten werden kann, wenn im Verhältniss zu den festen Auswurfstoffen die Harnmenge nicht eine gewisse Grenze überschreitet. (BIEDERMANN's Centralbl.)

Marchal (338) hat anknüpfend an die Beobachtung von NAEGELI, dass viele Pilze Stickstoff und Kohlenstoff aus Eiweiss zu entneh-

men vermögen, untersucht, in welcher Weise dabei das Eiweiss verändert wird. Auf $10^0/_0$ Hühnereiweiss ohne weiteren Nährstoffzusatz wuchsen die meisten Pilze üppig; schlecht entwickelten sich Penicillium glaucum, Aspergillus glaucus, Syncephalastrum elegans; Circinella umbellata, Fusoma alba, Mucor spinosus, plumbeus, racemosus bilden auf solchem Eiweiss nur hefeartige Zellen. Alle aber, auch die nur hefeartig sprossenden bilden aus dem Eiweiss Ammoniak; besonders kräftig sind in dieser Beziehung Aspergillus terricola und Cephalothecium roseum. Aehnliches ergaben andere Versuchsreihen. So bildet Aspergillus terricola in Milch beträchtliche Mengen Ammoniak aus Casein; ebenso verhält sich diese Form und Botryotrichum piluliferum in Blutserum und Peptonbouillon. Nitrate sind dagegen weder in den Kulturflüssigkeiten noch in den Pilzen zu finden; letztere sind also zur Ammoniakbildung aber nicht zur Nitrifikation befähigt. (Nach Bull. soc. bot. de France.)

Marchal (339) hat gefunden, dass viele der häufigsten Bodenbakterien aber nicht alle, aus Eiweiss Ammoniak bilden. Sehr kräftig sind in dieser Beziehung Bacillus arborescens, coli communis, figurans, fluorescens liquefaciens, mesentericus vulgatus, mycoides, subtilis, Termo, janthinus, Micrococcus albicans, Proteus vulgaris, Sarcina lutea. Die näheren Umstände dieser Ammoniakbildung hat Verf. an dem in dieser Hinsicht besonders kräftigen Bacillus mycoides untersucht und gelangt zu der Ansicht die Ammoniakbildung aus Eiweiss in Parallele mit der Schwefelbildung aus Schwefelwasserstoff durch die Schwefelbakterien zu setzen. Der Bacillus mycoides überträgt Sauerstoff auf das Eiweiss, oxydirt den Kohlenstoff zu CO_2, den S zu H_2O_4S, einen Theil des H zu Wasser und das Ammoniak bleibt als Rest. Die Optimalbedingungen für diese Reaktion sind eine Temperatur von 30^0, kräftige Luftzufuhr, leicht alkalische Reaktion, schwache Concentration der Eiweisslösungen. Ausser auf Eiereiweiss wirkt der Bacillus mycoides ebenso auf Casein, Fibrin, Legumin, Gluten, Myrsin, Serum und Peptone, Kreatin, Leucin, Tyrosin, Asparagin. Dagegen werden Harnstoff, salpetersaurer Harnstoff und Ammoniaksalze nicht angegriffen.

Im Ackerboden wird demnach ebenfalls Ammoniakbildung durch Pilze und Bakterien verursacht und zwar je nach den Umständen bald mehr von der einen, bald mehr von der anderen Gruppe von Organismen. In intensiv bearbeitetem Ackerboden sind Schimmelpilze selten, weil grössere Mengen organischer Substanz fehlen und die Reaktion alkalisch ist. Hier herrscht also die Thätigkeit der Bakterien vor. Dagegen finden sich in Humusböden, dem Humus der Wälder u. s. w. reichlich Schimmelpilze und diese werden hier vorwiegend thätig sein bei der „Ammonisation“, der ersten Stufe der Ueberführung des organischen Stickstoffs in die anorganische Verbindungsform. Die weiteren Umwandlungen dagegen, die „Nitrosation“ und „Nitratation“ können nur durch wenige besondere Organismen ausgeführt werden.

Muntz und **Coudon** (340) bestätigen experimentell, dass in bei 120° sterilisirtem Boden nie Ammoniakbildung eintritt, wohl aber sehr reichliche bei Impfung desselben mit unsterilisirtem Boden. Fünf isolirte Bodenmikroben riefen alle in Bouillon, vier davon in Boden Ammoniakentwickelung hervor. Reichliche Ammoniakbildung bewirken in Bouillon und Boden auch Mucor racemosus und Fusarium Muntzii. (Chem. Centralbl.)

d) Verschiedene Gährungen.

351. **Aulard,** L'acétificateur de de Munck (Bull. de l'assoc. belge des Chimistes t. VII, 1893, p. 96). — (S. 253)

352. **Behrens, J.,** Weitere Beiträge zur Kenntniss der Tabakpflanze. VII. Die Fermentation (Landwirthsch. Versuchstationen Bd. XLIII, 1893, p. 293). — (S. 253)

353. **Bersch,** Fortschritte auf dem Gebiete der Essigindustrie (Chemikerzeitung 1893, No. 48). — (S. 252)

354. **Beyerinck, W.,** Ueber die Butylalkoholgährung und das Butylferment (Verhandelingen der K. Akademie van Wetenschappen te Amsterdam Tweede Sectie, Deel I, no. 10). — (S. 258)

355. **Comes,** Mortalità delle piantine di tabacco nei semenzai cagionata da marciume della radice (Atti del R. Istituto d' Incoraggiamento di Napoli [IV] vol. VI, 1893, Mem. no. 2). — (S. 248)

356. **Dávalos, J. N.,** Notas sobre la fermentación del tabaco (Crónica méd. quirurg. de la Habana 1892, No. 15). — (S. 255)

357. **Grimbert, L.,** Fermentation anaérobie produite par le Bacillus orthobutylicus, ses variations sous certaines influences biologiques (Annales de l'Inst. Pasteur t. VII, 1893, p. 353). — (S. 241)

358. **Hänlein, H.,** Bakterien auf unseren Gerberinden und ihre Bedeutung (Tharander forstl. Jahrbuch Bd. XLIII, p. 56). — (S. 255)

359. **Hansen, E. Chr.,** Botanische Untersuchungen über Essigsäurebakterien (Berichte d. botan. Gesellschaft 1893, p. 69). — (S. 250)

360. **Happ, C.,** Bakteriologische und chemische Untersuchungen über die schleimige Gährung. Basel 1893. — (S. 247)

361. **Lafar, F.,** Physiologische Studien über Essiggährung und Schnellessigfabrikation. 1. Ueber einen Sprosspilz, welcher kräftig Essigsäure bildet (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, No. 21). — (S. 251)

362. **Pane, N.,** Sulla diversa quantità di glucosio che si trova nel brodo in rapporto al diverso grado di fermentazione di alcuni batteri (Rivista clinica e terapeut. 1892, no. 10).

363. **de Ridder,** Phénomènes de la fermentation panaire (Archives méd. belges. vol II, 1893, no. 4).

364. **Wehmer, C.,** Beiträge zur Kenntniss einheimischer Pilze. I. Zwei neue Schimmelpilze als Erreger einer Citronensäuregährung. Hannover 1893, Hahn. — (S. 268)

365. **Wehmer, C.,** Note sur la fermentation citrique (Bull. de la société chim. [Paris] 1893; Separat-Abzug).

366. **Wehmer, C.,** Ueber Citronensäure-Gährung (Sitzungsberichte der k. preuss. Akademie d. Wissensch. zu Berlin XXIX, 1893, 15. Juni).

367. **Wehmer, C.,** Zur Charakteristik des citronensauren Kalkes und einige Bemerkungen über die Stellung der Citronensäure im Stoffwechsel (Berichte d. botan. Gesellschaft 1893, p. 333). — (S. 272)

368. **Went,** Ueber einen neuen Schimmelpilz aus Zuckerrohr (Deutsche Zuckerindustrie Bd. XVIII, 1893, p. 1392). — (S. 248)

369. **Wermischeff,** Recherches sur les microbes acétifiants (Annales de l'Inst. Pasteur t. VII, 1893, p. 213). — (S. 248)

370. **Wood, J. T.,** Gährung in der Lederindustrie (British Association Section B. Nottingham-Meeting 1893: Chemical News vol. LXVIII, p. 199). — (S. 256)

371. **Wood, J. T.,** and **W. H. Willcox,** Further Contribution on the Nature of Bran-Fermentation (Journal of the Society of Chemical Industry 31. May 1893). — (S. 256)

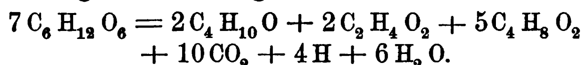
Grimbert (357) betont, dass jede Gährung in erster Linie als Ausdruck der Lebensthätigkeit des verursachenden Organismus aufzufassen sei und untersucht daher die Gährthätigkeit seines neuen Bacillus orthobutylicus vorzugsweise in ihrer Abhängigkeit von den äusseren Lebensbedingungen. Der genannte Bacillus ist eine anaerobiotische Form des Bodens, die Verf. zufällig in einer mit Leguminosensamen in Gährung versetzten, weinsauren Kalk enthaltenden Flüssigkeit fand. Nachdem die beigemengten Bakterienformen durch 1 Minute währendes Erhitzen der Flüssigkeit getödtet waren, konnte der Bacillus orthobutylicus nur durch wiederholte Kultur auf Kartoffeln in ausgepumpten Röhren rein erhalten werden. Er stellt 3-6 μ lange, 1,5 μ breite, bewegliche Stäbchen dar, die in der Jugend oft an einem Ende anschwellen, später findet man nur cylindrische Stäbchen mit 2-3 Sporen. Diese Sporen halten 80° aber nicht 85° 10 Minuten lang aus.

Der Bacillus vergährt Glycerin, Mannit, Glykose, Invertzucker, Rohrzucker, Maltose, Milchzucker, Galaktose, Arabinose, Stärke, Dextrin, Inulin, greift dagegen Trehalose, Erythrit, Glykol, milchsauren und weinsauren Kalk und arabisches Gummi nicht an. Die Gährprodukte sind normaler Butylalkohol[1] mit etwas Isobutylalkohol, normale Buttersäure, Essigsäure

[1]) Vgl. p. 258 unter Beyerinck.

und unter Umständen etwas Ameisensäure, an Gasen Kohlensäure und Wasserstoff. Hervorzuheben sind folgende Eigenthümlichkeiten des Bacillus: Er vergährt Rohrzucker, Maltose, Milchzucker ohne vorherige Inversion. Er setzt Stärke in Maltose und Dextrin um, letzteres wird aber bei seiner Entstehung durch ein besonderes Ferment sofort in Maltose weiter verwandelt; endlich vergährt der Bacillus Inulin ohne Umwandlung in Lävulose. Demnach unterscheidet er sich vom Bacillus butyricus PASTEUR und dem B. amylobacter VAN TIEGHEM dadurch, dass er keinen milchsauren Kalk und keine Cellulose vergährt[1]. Ausserdem färbt er sich nie mit Jod blau. Da er Milchzucker und Stärke vergährt und Rohrzucker nicht invertirt unterscheidet er sich vom B. butylicus FITZ und da er normalen Butylalkohol aus Kohlehydraten erzeugt unterscheidet er sich vom Bacille amylozyme PERDRIX[2].

Die Versuche wurden da der Bacillus anaerobiotisch ist, so angeordnet, dass die Gährgefässe auch nach dem Sterilisiren völlig gefüllt waren. Die Nährlösung enthielt die nöthigen Aschensalze und Pepton. Beispielsweise wurden in 100 cc dieser Lösung 2,40 g Glykose in 20 Tagen völlig vergohren zu 0,264 g Butylalkohol, 0,229 g Essigsäure und 0,842 g Buttersäure, was zu folgender Gleichung führt



$$7\,C_6H_{12}O_6 = 2\,C_4H_{10}O + 2\,C_2H_4O_2 + 5\,C_4H_8O_2 + 10\,CO_2 + 4\,H + 6\,H_2O.$$

Dabei wurden vom Beginne der Gährung an immer weniger Wasserstoff und immer steigende Mengen Kohlensäure gebildet.

Der Verf. geht dann zur Untersuchung der Abhängigkeit dieser Gährungen von den äusseren Umständen über und betrachtet zuerst den Einfluss der Reaktion der Flüssigkeit. Die Menge der gebildeten Säure, durch welche die Gährung sistirt wird, variirt und zwar mit der Art des Gährmateriales und bei demselben Material ändert sie sich mit dem Alter und der Kraft des Aussaatmateriales und mit der Menge des gebildeten Alkohols, die um so grösser ist, je weniger Säure da ist. Uebrigens ist im Einzelfalle schwer zu bestimmen, ob die Säure allein oder auch andere Gährprodukte den Fortgang der Gährung hemmen. Die folgende Tabelle, in der die Säure als Buttersäure berechnet und die Menge derselben, welche die Gährung sistirte angegeben ist, zeigt, dass diese Menge in keinem regelmässigen Verhältnisse zur vergohrenen Substanzmenge steht.

---

[1]) Da PASTEUR und VAN TIEGHEM keine Reinkulturen unter Händen hatten ist diese Diskussion zwecklos. Ob Amylobacter übrigens Cellulose vergährt ist durch die Untersuchungen von VAN SENUS und die meinigen sehr zweifelhaft geworden. Vgl. diesen Bericht I, 1890, p. 136 und auch den vorliegenden Jahrgang p. 258 unter BEYERINCK.

[2]) Vgl. Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 240.

Gährmaterial	Concentr. desselben	Säure per Liter	% der Substanz vergohren	
Glycerin	2-3 %	1,40g	29	
Stärke		1,44	50	
Glykose		1,58	52	Aussaatmaterial 8 Tage alt
"		1,76	39	" 1 " "
Mannit		1,85	50	
Kartoffeln		2,08	?	
Rohrzucker		2,20	15	
Dextrin		2,55	23	
Inulin		2,76	40	
Invertzucker	4-5 %	1,66	39	
Dextrin		2,48	16	
Glykose	1 %	1,49	100	

Das Mengenverhältniss der gebildeten Gährprodukte ändert sich auch mit der Reaktion. Wenn die Flüssigkeit sauer wird steigt die Menge des gebildeten Butylalkohols und es wird weniger Buttersäure gebildet, während die Essigsäureproduktion sich kaum ändert. Die Zahlen der folgenden Tabelle beziehen sich auf 1 g vergohrene Substanz; $\frac{a}{b}$ drückt das Verhältniss zwischen Essigsäure und Buttersäure in Molekulargewichten aus:

		Butylalkohol	Essigsäure	Buttersäure	$\frac{a}{b}$
Glykose	ohne Kreide	0,329	0,072	0,070	1:0,66
	mit "	0,110	0,095	0,350	1:2,5
Glykose	ohne "	0,316	0,040	0,020	1:0,33
	mit "	0,155	0,044	0,322	1:5
Invertzucker	ohne "	0,329	0,094	0,0	1:0
	mit "	0,069	0,100	0,366	1:2,5
Glycerin	ohne "	0,643	0,026	0,153	1:4
	mit "	0,075	0,025	0,228	1:7
Kartoffeln	ohne "	0,280	0,077	0,088	1:0,66
	mit "	0,042	0,092	0,819	1:6
Inulin	ohne "	0,027	0,035	0,310	1:6
	mit "	0,036	0,051	0,454	1:6

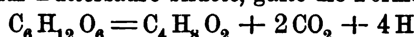
Wenn die Zellen des Gährungserregers also durch Säure oder wie noch gezeigt werden wird auf andere Weise in der freien Entwicklung gehemmt werden entsteht mehr Alkohol. Wenn aus einem Molekül Glykose nur Buttersäure entstände, würden 14,6 Calorien frei, bei alleiniger Bildung von Butylalkohol aber 41,9 Calorien. Im letzteren Falle gewinnen die Zellen also viel mehr Energie. Bei Gegenwart von kohlensaurem Kalk werden 18,5 Calorien durch Buttersäurebildung frei. Auch dann ist also

der Unterschied in der Menge der Calorien, die durch Bildung von Butylalkohol oder Buttersäure frei werden noch sehr bedeutend und es kann jedenfalls die erhöhte Säurebildung in diesem Falle nicht auf thermochemische Phänomene sondern darauf zurückgeführt werden, dass die Säure, da sie immer sofort durch Kalk gebunden wird, ihre hemmende Wirkung auf die Zellen nicht äussern kann.

Der Verf. untersucht weiter den Verlauf der Gährung während ihrer ganzen Dauer und findet nach Versuchen mit Glykose oder Invertzucker, dass in der Zeiteinheit immer steigende Mengen Butylalkohol aber immer weniger Butter- und Essigsäure gebildet werden, sowie dass das Verhältniss $\frac{a}{b}$ (siehe oben) in neutraler Flüssigkeit immer kleiner, in saurer immer grösser wird. Das Verhältniss der gebildeten Gase schwankt ebenfalls:

	Volumverhältniss $\frac{H}{CO_2}$
4ter Tag	$\frac{53.8}{46.2}$
13 „ „	$\frac{25.5}{74.5}$
22 „ „	$\frac{21.5}{78.5}$
Im Ganzen	$\frac{333}{666}$

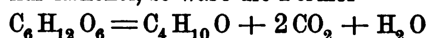
Wenn sich nur Buttersäure bildete, gälte die Formel



$$C_6H_{12}O_6 = C_4H_8O_2 + 2\,CO_2 + 4\,H$$

Das Verhältniss $\frac{H}{CO_2}$ wäre dann $\frac{50}{50}$

Bildete sich nur Alkohol, so wäre die Formel



$$C_6H_{12}O_6 = C_4H_{10}O + 2\,CO_2 + H_2O$$

$\frac{H}{CO_2}$ wäre dann $\frac{0}{100}$; es entstände kein Wasserstoff.

Nach der soeben gegebenen Tabelle geht die Gährung während ihres Verlaufes mehr und mehr nach der zweiten Formel, denn es entsteht immer weniger Wasserstoff.

Das mittlere Verhältniss $\frac{H}{CO_2} = \frac{333}{666}$ führt zu der Gleichung:



$$2\,C_6H_{12}O_6 = C_4H_{10}O + C_4H_8O_2 + 4\,CO_2 + 4\,H + H_2O$$

wobei keine Rücksicht auf Essigsäurebildung genommen ist, die nach folgender Gleichung keine Gasbildung verursacht.



$$C_6H_{12}O_6 = 3\,C_2H_4O_2$$

Die Zahlen der obigen Tabelle gelten aber nur für die verwendete wenig konzentrirte Zuckerlösung ohne Kalkzusatz und es geht aus dem Gesagten hervor, dass sich überhaupt nicht eine Gleichung für eine Gährung aufstellen lässt, sondern für jede Kombination von Gährungsbedingungen und für jedes Stadium der Gährung andere Gleichungen gelten. Im Allgemeinen wird aber jede Gährung gegen das Ende zu immer einfacher. Der Grund für diese regelmässigen Aenderungen des Gährungsverlaufes liegt darin, dass die später in der Gährflüssigkeit entstehenden Zellen unter dem schwächenden Einfluss der Gährprodukte sich entwickeln. Deshalb wird eine Gährung um so regelmässiger sein, je weniger konzentrirt die Flüssigkeit ist.

Im Anfang der Gährung beobachtet man manchmal Spuren von Ameisensäure, die verschwinden, wenn die Gährflüssigkeit neutral bleibt, aber bei saurer Flüssigkeit erhalten bleiben. Die Ameisensäure kann demnach als ein pathologisches Produkt der Gährungserreger angesehen werden. Dass übrigens die Ameisensäure durch die erzeugende Zelle wieder zerstört wird, haben schon Duclaux [1] und auch Frankland und Frew [2] gezeigt.

Weitere Versuche des Verf. behandeln den Einfluss des Alters des Aussaatmateriales auf den Gang der Gährung. Er benutzt dazu Glykoseröhrchen, in denen 24 Stunden nach Einsaat die angeschwollenen Stäbchen, nach 8 Tagen die gewöhnlichen, auch noch sehr beweglichen Formen beobachtet werden, während später die Bewegung allmählig erlischt und die Sporen sich ausbilden. Aus solchen verschieden alten Glykoseröhrchen wurden verschiedene Kulturen besät und gefunden, dass die Kraft des Aussaatmateriales hinsichtlich der Butylalkoholbildung während der ersten Tage wächst, später aber abnimmt. Dem Maximum der Butylalkoholbildung entspricht das Minimum der Buttersäureproduktion:

Kulturen mit 2,54 % Glykose und Kreide

	Alter des Aussaatmateriales		
1 g Glykose gab	1 Tag	8 Tage	45 Tage
Butylalkohol	0.110	0.175	0.139
Essigsäure	0.095	0.181	0.100
Buttersäure	0.350	0.177	0.221
$\frac{a}{b}$	$\frac{2}{5}$	$\frac{3}{2}$	$\frac{2}{3}$

Wenn man andererseits die Bakterien in einer günstigeren Nährlösung, in Kartoffelabkochung vorkultivirt, so zeigen sie als Aussaatmaterial verwendet ihre Eigenschaften viel schneller verändert, offenbar weil sie sich in dieser Nährlösung schneller vermehren.

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 74.

[2]) Ebenda p. 230.

Kulturen mit 3 % Glykose und Kreide

	Alter des Aussaatmateriales		
1 g Glykose giebt	1 Tag	8 Tage	15 Tage
Butylalkohol	0.209	0.085	0.030
Essigsäure	0.055	0.066	0.070
Buttersäure	0.242	0.292	0.415
$\frac{a}{b}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{4}$
Verbrauchte Glykose	100 %	100 %	48,8 %

Diese Kulturen gohren ebenso wie die vorher erwähnten 20 Tage; in letzteren war der gesammte Zucker verbraucht.

Da der Bacillus orthobutylicus aus Inulin nur Spuren von Butylalkohol bildet versucht Verf. weiter, ob der Bacillus nach einer Reihe von Generationen in Inulinlösung auch in Glykose weniger Alkohol bildet, findet aber im Gegentheil, dass dann aus Glykose mehr Alkohol gebildet wird und dass weiter wenn die Bakterien eine Reihe von Generationen in Inulinlösung und darauf in Gegenwart von Glykose durchlaufen, sie nun auch aus Inulin mehr Butylalkohol als sonst bilden. Der Verf. ist geneigt dies dadurch zu erklären, dass in der ungünstigen Inulinlösung nur diejenigen kräftigeren Individuen erhalten bleiben, welche mehr Alkohol zu produciren im Stande sind und weist darauf hin, dass man auf diese Weise auch manche Erfahrungen hinsichtlich pathogener Bakterien und auch manche von GESSARD[1] bezüglich Bacillus pyocyaneus erklären kann. Jedenfalls ist es also von Einfluss auf den Verlauf der Gährung, in welchem Medium das Aussaatmaterial herangezogen wurde.

Der Verf. wendet sich weiter zur Besprechung der Vergährung verschiedener Körper durch den Bacillus orthobutylicus. Lässt man Stärke durch den genannten Organismus vergähren, so findet man nur Maltose aber kein Dextrin; trotzdem bildet das von dem Bacillus produzirte Ferment aus Stärke aber Maltose und Dextrin. Der Bacillus bildet also auch Dextrin aus Stärke, vergährt es aber sofort weiter. Eine Dextrinlösung wird ebenfalls von dem Bacillus vergohren und es entsteht dabei Maltose mit Hülfe eines von dem Bacillus produzirten Fermentes. Denn wenn eine Dextrinlösung mit der gleichen Menge einer mit Senföl versetzten gährenden Kultur des Bacillus und andererseits mit aufgekochter Kulturflüssigkeit einen Tag bewahrt wurde, so fand Verf. 27 % des Dextrines in Maltose umgewandelt. Eine gährende Dextrinlösung enthält andererseits ein Stärkekleister in Dextrin und Maltose überführendes Ferment. Der Bacillus produzirt also wohl nur ein Ferment, welches sich von der Malzdiastase durch die Fähigkeit leicht Dextrin zu verzuckern unterscheidet.

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 107; III, 1892, p. 86.

Für die Art und Weise, in der der Bacillus Stärke, Dextrin und Inulin vergährt giebt der Verf. angenäherte Formeln, bezüglich deren auf das Original verwiesen sei. Diese Gleichungen geben das Mengenverhältniss der entstehenden oben oft erwähnten Gährprodukte des Bacillus an. Dass Inulin direkt, ohne vorherige Umwandlung durch ein Ferment vergohren wird, wurde schon erwähnt.

Bezüglich der Vergährung der Zucker $C_6 H_{12} O_6$ ist zu bemerken, dass aus dem Invertzucker die Lävulose viel langsamer vergohren wird als die Dextrose und dass auch hier die Reaktion der Flüssigkeit auf die Intensität der Gährung wirkt. Von dieser Gruppe wurde auch die Vergährung der Galaktose, von der Zuckergruppe $C_5 H_{10} O_5$ die der Arabinose untersucht. Die Zuckerarten der Formel $C_{12}H_{22} O_{11}$ also Rohrzucker, Maltose, Milchzucker werden ohne vorherige Inversion vergohren. Die Rohrzuckerlösungen reduzirten nie direkt und es wurde auch kein Invertin erhalten als die abfiltrirten Bakterien mit Senföl und Wasser in Berührung standen um eventuell das in ihren Zellen enthaltene Invertin abzugeben. Von den mehratomigen Alkoholen wird Mannit langsam vergohren und aus Glycerin entsteht zum Unterschied von allen anderen Körpern als Gährprodukt neben den oben genannten auch Linksmilchsäure. Verf. giebt in allen diesen Fällen wieder die angenäherte Gleichung.

Zum Schlusse betont Verf. noch einmal, dass es eine vergebliche Hoffnung ist eine Gährung durch eine einzelne einfache Gleichung darstellen zu wollen, weil jede Zelle des Gährungserregers eine Entwicklung durchmacht, in deren Verlaufe sie das Maximum ihrer Kraft erreicht, dann altert und stirbt und man in einer gährenden Flüssigkeit Zellen in allen Entwickelungsstadien neben einander findet, weil andererseits die sich anhäufenden Gährungsprodukte die Zellenthätigkeit beeinflussen.

Happ (360) beschreibt einen aus Digitalisinfus reinkultivirten Bacillus und einen Mikrokokkus aus Senegainfus, die schleimige Gährung erregen.

Der Bacillus gummosus ist 5-7,5 μ lang, 0,6-2 μ breit. Auf Agar ist er länger und dicker als in Gelatine. In älteren Kulturen erscheint er spindelförmig. Er besitzt schwache, schlangenartige Eigenbewegung, die im hängenden Tropfen erst nach einigen Stunden und nur kurze Zeit eintritt. Er verflüssigt schnell Gelatine und die Colonien treiben viele Ausläufer. Auf Kartoffeln bildet er erst einen feuchten Belag, dann eine weissliche faltige Haut. Der Bacillus besitzt Cilien und bildet endogene Sporen.

Der Mikrokokkus ist 0,4 μ dick, bildet auf Gelatine gelbliche Pünktchen und verflüssigt schwach nur bei Zusatz von 25 $^0/_0$ Rohrzucker, welcher Körper auch die Wachsthumsgeschwindigkeit erhöht. Auf Agar bildet er dünnen, mattglänzenden, leicht ablösbaren Belag, auf Kartoffeln wächst er üppig als syrupähnliche Schicht.

Dieser Micrococcus gummosus ist dem M. gelatinogenus BRÄUTIGAM[1] sehr ähnlich, unterscheidet sich von ihm aber durch den Verlauf der Gährung. Schleimbildung tritt unter dem Einfluss des Bacillus oder Micrococcus gummosus nur bei Gegenwart von Rohrzucker (Opt. 10 %), der bei letzterer Form durch Maltose ersetzbar ist, ein. Der Zusatz von Mineralsalzen oder Eiweissstoffen soll dabei nicht nöthig sein. Der Schleim scheint durch Zersetzung des Zuckers und nicht durch Membranverquellung zu entstehen; er ist eine in Wasser lösliche, in Alkohol und Aether unlösliche Gummose von der Formel $(C_6 H_{10} O_5)$ n. Als Nebenprodukte treten bei der schleimigen Gährung Mannit, Milchsäure, Buttersäure, Kohlensäure auf und ein kleiner Theil des Rohrzuckers soll in Traubenzucker verwandelt werden. (Centralbl. f. Bakteriol.)

Went (368) beobachtete im Innern javanischen Zuckerrohres einen neuen Schimmelpilz, den er, wegen seiner Aehnlichkeit mit ZOPF's Thielavia basicola (Erreger der Wurzelbräune der Lupine) Thielaviopsis aethaceticus nennt. Glykose wird von demselben direkt, Rohrzucker und Dextrin nach geschehener Inversion vergohren und zwar entsteht Alkohol, Essigsäure, Aethylacetat und ein für den Pilz charakteristischer Ananasaether, der aber in einem späteren Stadium der Gährung wieder verschwindet. Der Pilz lebt saprophytisch und verbreitet sich sehr leicht und rasch. Junges, irgendwie verletztes, der harten Aussenrinde an irgend einer Stelle beraubtes Rohr inficirt er sehr leicht, schreitet nach dem Absterben der äussersten Zellen bald weiter fort und befällt allmählich grosse Flächen desselben. Ganz besonders schädigt er aber die Stecklinge, weshalb man bei deren Auslese alle jene gänzlich verwerfen muss, die den Ananasgeruch zeigen, während man die übrigen waschen oder besser desinfiziren soll. Der Pilz tritt manchmal bereits epidemisch auf und ist gefährlich. (Chemikerztg.)

Comes (355) behauptet, dass ein als Schwamm bezeichnetes Absterben der Tabaksetzlinge, wobei Wurzelfäulniss eintritt von Bacillus Amylobacter verursacht wird, ohne dies experimentell zu beweisen. (Bot. Centralbl.)

Wermischeff (369) versucht verschiedene essigbildende Bakterienformen zu trennen und zu charakterisiren. Er setzt nach PASTEUR ein Gemisch von Rothwein, Wasser und Essig der Luft aus, bis ein Schleier sich darauf bildet und benutzt zur Isolirung der denselben zusammensetzenden Bakterienformen Hefenwasser, dem er 5-7 % Alkohol, 1-2 ‰ Essigsäure und 10 % Gelatine zusetzte. Die auf diesem sterilisirten Substrat nach Einsaat des erwähnten Essigbakteriengemisches entstehenden Colonien gehören zu folgenden verschiedenen Typen:

1. Runde, ebene, dünne Colonien, bräunlich bei schwacher Vergrösserung.

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 222; III, 1892, p. 68.

2. Ebenso nur in der Mitte dunkler wie am Rande.
3. Durchsichtige, fast glänzende Colonien, warzenförmig von einer Depression umgeben.
4. Glänzende runde Colonien, schwarz am Rande, braun in der Mitte, nicht körnig.
5. Runde, braune, glänzende Colonien mit einem gezackten Wulst in der Mitte.
6. Diffuse, mehr oder minder runde Colonien, einem Tropfen verdünnter Milch ähnlich. Mikroskopisch sehen sie braun, transparent, aber wie mit undeutlichem Filz überzogen aus. Diese Colonien sind oft etwas untergetaucht.

Wenn Material aus Colonien der ersten fünf Typen in verdünnten Weisswein gebracht wurde, so trat Essigbildung ein und dabei wurde die Flüssigkeit entweder trübe und bekam einen mehligen Bodensatz oder blieb klar und bekam ein zartes, an den Glaswänden hinaufsteigendes Häutchen. In beiden Arten von Kulturen fanden sich Bakterien, die der Form nach gleich waren und auf Gelatine Colonien der ersten fünf Typen bildeten. Die Verschiedenheit der Colonien hängt also nur von den Verschiedenheiten der Entwicklung auf dem festen Substrat ab. Auch kann man durch Einsaat aus einer Kultur mit zarter Haut und klarer Flüssigkeit eine solche mit Bodensatz und trüber Flüssigkeit erhalten und umgekehrt. Die zarte Haut scheint, wenn sie älter wird, leicht in der Flüssigkeit unterzusinken.

Dagegen ergab Material aus Colonien des Typus 6 stets die bekannte Essigmutter, eine schleimige Haut an der Oberfläche der Flüssigkeit, die successive dicker wird, dann zu Boden sinkt und durch eine neue ersetzt wird. Diese Haut gab die von Brown zuerst bei schleimiger Essigmutter nachgewiesene Cellulosereaktion mit Jod und Schwefelsäure. Brown nannte die Bakterienform, die die von ihm untersuchten Häute bildet, Bacterium xylinum.

Ob diese dicken Häute weniger schnell Essig bilden, als die dünnen hält Verf. nicht für ausgemacht und glaubt, dass in der Industrie diese Form aus anderen Gründen nicht beliebt ist.

Mikroskopisch stimmt der Organismus, welcher die dünnen Häute oder die Trübungen und Bodensätze in der Flüssigkeit bildet mit dem überein, den Pasteur als ferment acétique beschrieb und abbildete. Es sind dies in der Mitte eingeschnürte Bakterien, die sich älter geworden als Micrococcus oder Diplococcus darstellen können. Besonders nach Färbung mit Methylenblau oder Dahlia tritt eine heller gefärbte schleimige Hülle dieser Bakterien hervor. Manchmal sind Glieder der Ketten dieser Bakterienform aufgeblasen oder zu Stäbchen geworden.

Die die schleimige Haut bildende Bakterienform ist nach Verf. nur dann mikroskopisch zu untersuchen, wenn man eine junge, dünne Haut

nimmt und sie mit verdünntem Kali und Salzsäure successive behandelt. Dann kann man sie trocknen und mit Anilinfarben färben. Verf. bemerkt dann kurze, dunkel gefärbte, gedrängt liegende Stäbchen, die in Wahrheit bei genauerer Betrachtung sich indessen als Reihen von Kokken, die bei der Präparation eng zusammengedrängt wurden, herausstellen. Diese Kokken sollen etwas länger als die der dünnen Häute sein. Diese Kokken können auch längere Fäden, aber ohne Auftreibungen bilden.

In seinen Kulturen fand Verf. also mindestens zwei Formen von Essigbakterien, er lässt es aber dahingestellt ob diese zu Bakterium aceti oder Pasteurianum Hansen zu stellen sind. Die von dem letztgenannten Autor beobachtete blaue und gelbe Jodreaktion der genannten beiden Essigbakterienspezies beobachtete Verf. nie. Jedenfalls giebt es zahlreiche Essigbakterienformen; die von Duclaux beschriebenen, halb festen, mit regelmässigen Höckern bedeckten Häute, die wegen letzterer Eigenschaft die Flüssigkeitsoberfläche in Regenbogenfarben erscheinen lassen, beobachtete Verf. auch nicht.

Hansen (359) bringt hier einen Theil seiner neuen Untersuchungen über Essigsäurebakterien zur Kenntniss, die vollständig in den Mittheilungen des Carlsberger Laboratoriums erscheinen werden. Verf. fand, dass ausser Bacterium Pasteurianum auch ein neues B. Kützingianum mit Jod blaue Reaktion giebt. Es ist der die Zellen umhüllende Schleim, der durch das Jod blau gefärbt wird. Durch Druck kann man die Zellen aus dem Schleim entfernen, so dass entsprechende Hohlräume zurückbleiben; ob die Zellen selbst unter Umständen blau gefärbt werden, vermochte er nicht zu entscheiden; der Inhalt der grossen stark aufgeschwollenen Zellen wird jedenfalls bei allen Spezies durch Jod gelb gefärbt. Ausser den kurzen zu Ketten vereinigten Zellen bilden B. aceti und Pasteurianum bekanntlich die bisher als Involutionsformen bezeichneten langen Fäden und aufgeschwollenen Formen. Verf. studirte nun die Faktoren, welche die Entwickelung dieser Formen bedingen und wie sich eine Form aus der anderen entwickelt. Als günstigstes Nährsubstrat fand er extraktreiches, alkoholarmes Doppelbier eventuell unter Zusatz von 2 % Agar. Temperatur-Minimum für die Entwickelung von B. aceti ist 4-5° C, für B. Pasteurianum 5-6°, Maximum für beide 42-43°, Optimum 34°. Bei der Optimaltemperatur erhält man schon in 20 Stunden kräftige Hautbildung, in der nur ausnahmsweise andere Formen als zu Ketten gereihte Kurzstäbchen vertreten sind. Die Kettenform ist die typische für die Umstände, wo energische Hautbildung statt hat. Hält man nun aber eine Kultur bei 40-40½° C, so findet noch ziemlich kräftige Entwickelung statt, die neugebildeten Zellen werden aber länger und länger und es entstehen Ketten mit sehr langen Gliedern, bis sich nach 24 Stunden eine aus der typischen Fadenform bestehende Vegetation gebildet hat. Stellt man diese dann bei 34° so nehmen die Fäden

zuerst in der Länge und in der Dicke erheblich an Grösse zu, wobei sie spindelförmig werden oder an einer oder mehreren Stellen stark anschwellen; die Anschwellungen sind anfänglich oft kugelförmig, haben einen Durchmesser bis zu 11 μ und enthalten gleichförmiges Plasma.

Nachdem diese vorbereitenden Stadien durchlaufen sind, gliedern sich die Fäden und ein Theil der Anschwellungen zu Kurzstäbchen, während die dicksten Parthien sich auflösen. Die Aufschwellung der Fäden ist also ein regelmässiges Zwischenglied bei der Rückbildung der Fäden zu Kurzstäbchen. Diese Rückbildung kann auch bei Zimmertemperatur, wenn auch mit geringerer Kraft, stattfinden und nicht nur auf Doppelbier, sondern auch auf Würze und dem genannten festen Nährboden.

Von den anderen Bedingungen, unter denen die Fäden und angeschwollenen Formen unregelmässig auftreten, ist noch Nichts bekannt.

Die beschriebene Gesetzmässigkeit scheint auch für ganz andere, verschiedenen Gruppen angehörige Bakterien Gültigkeit zu haben. Verf. will daher später die Frage von einem allgemeineren Gesichtspunkte behandeln.

Lafar (361) beschreibt einen hautbildenden Sprosspilz, der in Bier kräftige Säurebildung hervorruft. Die Form wurde aus Fassgeläger einer an Betriebsstörung laborirenden Brauerei isolirt. Die gebildete Säure war „nach den bisherigen Versuchsergebnissen“ Essigsäure, näher lässt sich Verf. über die Art der Identifizirung nicht aus. Die Intensität der Säurebildung bestimmte Verf., indem er eine grössere Reihe von Kolben, in denen je 100 cc Lagerbier enthalten waren, mit möglichst gleichen Hautstücken des besagten Sprosspilzes impfte und dann jeweils die Flüssigkeit eines Kolbens titrirte. (Tabelle siehe folg. Seite.)

Das Hautstück löste sich zunächst in äusserst kleine, kaum noch sichtbare Partikelchen auf, dann erschien ein Häutchen, welches nach einigen Tagen Fältelung zeigte. Letzteres Merkmal hat dieser Sprosspilz mit einigen vom Verf. untersuchten Essigbakterienformen gemein; letztere bilden aber feuchte fettglänzende Häute, während die des Sprosspilzes trocken, matt und wie mit staubfeinen Schüppchen bestreut erscheinen. Schliesslich wurde die Fältelung der Sprosspilzhaut kraus und glich nun den bekannten Häuten von Mycoderma cerevisiae oder vini.

Währenddem blieb die ruhig stehende Flüssigkeit blank, beim schwachen Anstossen liess die Haut aber feinen, die Flüssigkeit trübenden Staub fallen. Der Geruch der Flüssigkeit war angenehm obstartig und zwar nahm dieses Aroma mit der Säure zu und verschwand mit ihr. Das sauer gewordene Bier hatte einen sehr angenehmen Geschmack, der von dem eines guten Weinessigs nicht unterscheidbar war falls die Flüssigkeit filtrirt worden war; geschah dies nicht so war der Geschmack rauh. Auf diese praktisch wichtige Beobachtung will Verf. zurückkommen.

Die genauere morphologische Beschreibung dieses Sprosspilzes und weitere Untersuchungen über Essigsäuregährung wird Verf. später geben.

Zeit seit Versuchsbeginn in Stunden	Geruch	Menge der Flüssigkeit in cc	Gesammtsäuregehalt der Probe als Essigsäure berechnet abzüglich des ursprünglichen Säuregehaltes der Probe in g
23	fein aromatisch	96,0	0,000
87	säuerlich erfrischend an Birnenester erinnernd	96,5	0,494
118		94,0	0,691
137		93,5	0,650
166		95,0	0,713
206		95,0	0,870
304		92,5	1,098
356		92,0	0,520
446	desgl. aber schwächer	91,0	0,126
472	ganz schwach	93,0	0,057
518		89,5	0,012
612	verschwunden	91,0	0,004
765		91,0	0,001

Bezüglich der historischen Bemerkungen des Verf. darüber, dass Turpin keinen Antheil an der Entdeckung der Essigsäurebakterien habe und dieses Verdienst Kützing allein zuzuschreiben sei, kann auf das Original verwiesen werden. Der Verf. zieht aus seinen oben referirten Resultaten den Schluss, dass die von Pasteur (Etudes sur le vinaigre) aufgestellte Behauptung, dass Mycoderma vini (bezw. cerevisiae) den Alkohol direkt und ohne intermediäre Bildung von Essigsäure zu Kohlensäure und Wasser verbrennt, nicht mehr aufrecht zu erhalten sei.

Es gebe vielmehr mindestens einen Sprosspilz genannter Art, welcher kräftig Essigsäuregährung hervorzurufen vermag.

Bersch (353) beklagt, dass die Essigfabrikation aus Alkohol sich immer noch fast auf dem Standpunkte befindet, auf den sie Schützenbach gebracht, trotzdem die grossen Materialverluste, die die unzweckmässige Luftzufuhr in den Essigbildern mit sich bringt, die steigenden Alkoholpreise und die scharfe Concurrenz der verbesserten Fabrikation reiner Essigsäure aus Holz gebieterisch zu rationellerem Betrieb zwingen. Der Verf. glaubt, dass gründliche Verbesserungen durchzuführen sind, sobald nur die Leitung der Fabrikation nicht mehr in der Hand von Empirikern, sondern von Chemikern liegt, die mit den auch hier unerlässlichen bakterio-

logischen Kenntnissen ausgerüstet sind. Der Verf. glaubt, dass die Pasteursche Verbesserung der Essigfabrikation bis jetzt nur deshalb keinen allgemeinen Eingang fand, weil die Praktiker nicht die für die fortlaufende Reinkultur der Essigbakterien nöthigen Kenntnisse besassen.

Das anzustrebende Ziel sieht Verf. sehr richtig darin, dass ausgewählte Sorten von Essigbakterien wie jetzt die reinen Hefen von Zuchtanstalten an die Fabriken geliefert werden und glaubt, dass dies auch materiell lohnen würde.

Das direkte Züchten der Essigbakterien auf dem Essiggute hat nicht nur wegen der in den Schnellessigbildern eintretenden Materialverluste Vortheile, sondern auch deshalb weil es wahrscheinlich in Folge von Esterbildung einen durch Wohlgeruch ausgezeichneten Essig liefert.

Selbst die besten deutschen Speiseessige aus Wein sind gegenüber den französischen in Folge der mangelhaften Bereitungsweise ganz untergeordneter Beschaffenheit und erzielen deshalb viel geringere Preise.

Diese Ausführungen des Verf. zeigen von Neuem, ein wie grosses Bedürfniss für die verschiedensten Zweige der Praxis die Einrichtung von Lehrstühlen für die nicht medizinische Seite der Bakteriologie besonders an technischen Anstalten ist; es ist im Hinblick auf die Schnelligkeit, mit der hygienische Institute überall emporgeschossen sind, merkwürdig, dass in der angeregten Beziehung noch fast Nichts geschah.

Aulard (351) beschreibt einen von Munck konstruirten Apparat zur Essigbereitung. Derselbe besteht aus einer grösseren äusseren Tonne, die das Essiggut enthält; in diese ist eine kleinere, durchlöcherte Tonne eingesetzt, die im Innern von senkrecht und horizontal gezogenen entfetteten Baumwollschnüren durchzogen ist, die 1 cm von einander abstehen. Auf diesen Schnüren sitzen die Essigbakterien. Die innere Tonne kann nun durch eine Vorrichtung in eine drehende und zugleich aufsteigende Bewegung versetzt werden, wodurch der Luftsauerstoff ausgiebig mit der die Baumwollschnüre durchtränkenden und von ihnen abtropfenden Flüssigkeit in Berührung gebracht werden soll.

Behrens (352) hat sehr dankenswerther Weise unter Anderem zur Aufklärung des noch wenig bekannten Vorganges der Tabaksfermentation vergleichende Untersuchungen unternommen. Zu dem Zwecke wurden dachreife Blätter unter Schonung der Mittelrippe halbirt, die eine Hälfte sofort untersucht, die andere zusammen mit anderem Tabak in der kaiserlichen Manufaktur in Strassburg fermentirt und dann untersucht. (Tabelle siehe umstehend.)

Der abnorm hohe Gehalt an schwefelsauren Salzen erklärt sich aus der Düngung des betreffenden Tabaks mit schwefelsaurem Ammon; auch der Chlorgehalt war abnorm hoch. Die Aschenalkalinität war daher sehr gering, sie betrug trotz des hohen Kaligehaltes von 4,10 % nur 0,50 %

des Trockengewichtes (als K_2CO_3 berechnet) im dachreifen, 0,98 % im fermentirten Zustande.

Die sandfreie Trockensubstanz enthielt prozentisch

	dachreif	fermentirt
Gesammtstickstoff	3.09	3.24
Eiweissstickstoff	1.30	1.36
Nikotin	1.464	1.075
Aetherextrakt	9.41	8.34
Darin Säure als Milchsäure berechnet	0.446	0.450
Organische, nicht flüchtige Säuren (als Apfelsäure berechnet)	16.81	14.45
Mit Wasserdämpfen flüchtige Säuren (als Buttersäure berechnet)	0.124	0.299
Reduzirender Zucker (nach Ausfällung des Auszugs mit Bleiacetat)	1.26	0
Salpetersäure (N_2O_5)	0.201	0
Schwefelsäure (SO_3)	2.147	2.201
Sandfreie Asche	19.83	21.01

Die durch die Fermentation bewirkten Veränderungen im Tabak sind nach den angegebenen Zahlen folgende:

1. Die Fermentation ist mit einer Substanzabnahme infolge Kohlensäureausscheidung verbunden. Dieselbe beträgt nach dem Aschengehalt berechnet 5,6 %, nach dem Schwefelsäuregehalt 2,5, nach dem Stickstoffgehalt 4,6 %, scheint also nicht über 4-5 % zu steigen. Wenn höhere Zahlen angegeben werden, so ist wohl der Wasserverlust mitgerechnet.

2. Der genannte Substanzverlust betrifft vorzüglich die löslichen Kohlehydrate und die organischen nichtflüchtigen Säuren. Erstere verschwinden wohl vollständig. Ein im alkoholischen Extrakt fermentirter Blätter vom Verf. nachgewiesener reduzirender Körper war wohl Tabakgerbsäure.

3. Auch das Nikotin, im vorliegenden Falle etwa 30 %, wird bei der Fermentation zerstört. Ein Theil desselben wird wohl von den Mikroorganismen als Nährstoff aufgenommen; der Versuch zeigte, dass Nikotin Botrytis cinerea als Nährstoff dienen kann. Eine Verwandlung von Nikotin in den mehr als zweifelhaften Nikotinkampfer (Nikotianin), die SUCHSLAND [1] als Zweck der Fermentation angiebt, ist nach Verf. natürlich vollständig ausgeschlossen.

4. Die Salpetersäure verschwindet bei der Fermentation vollständig.

5. Das Verhältniss der Eiweisskörper, Peptone, etc. zu den übrigen stickstoffhaltigen Verbindungen, Amiden etc. ändert sich bei der Fermen-

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 230.

tation nicht; vor wie nachher sind 42 % des Stickstoffs in Form von Eiweiss vorhanden. Verf. glaubt aber, dass dieses nicht immer der Fall ist. Asparagin wurde in fermentirten Tabaken nicht mehr gefunden. Die vorwaltende, eine schwer lösliche Kupferverbindung bildende Amidoverbindung konnte noch nicht näher untersucht werden.

6. Die mit Aether extrahirbaren Stoffe vermindern sich wie beim Trocknen so auch bei der Fermentation. Da die Acidität derselben vor und nach der Fermentation dieselbe ist, dürfte sie nicht von Milchsäure herrühren. Milchsäure scheint überhaupt bei der Fermentation nicht zu entstehen. Aus unfermentirtem Tabak erhielt Verf. 0,83 %, aus fermentirtem 0,342 % Milchsäure. Die saure Reaktion dürfte also wohl von einer in Aether löslichen schon im unfermentirten Tabak vorhandenen Säure wahrscheinlich Citronensäure herrühren. Dagegen wird Bernsteinsäure wohl erst bei der Fermentation entstehen, da Verf. sie in dachreifen Tabaken nicht auffinden konnte.

7. Andererseits wird bei der Fermentation eine mit Wasserdämpfen flüchtige Säure gebildet, die wohl Buttersäure ist, nach der stark fermentirender Tabak nicht selten riecht. Die vor der Fermentation schon vorhandene flüchtige Säure ist ihrer Natur nach unbekannt.

Die Analogie der Tabakfermentation mit der Einsäuerung der Futtermittel dürfte demnach nicht zweifelhaft sein, Verf. glaubt aber, dass mit der Tabaksfermentation nicht die Sauerfutterbereitung sondern die des Braunheus am meisten Aehnlichkeit hat. Die Bedingungen der letzteren, die Nothwendigkeit nicht zu wasserreiches Material zu verwenden um Fäulniss zu vermeiden, der Gang der Erhitzung, der auftretende Brot- und Honigkuchengeruch stimmen alle mit den Erscheinungen der Tabakfermentation überein. Nach Dietrich berechnet sich der Substanzverlust bei der Braunheubereitung auf 12-13,6 %; dieser Autor fand bei der Braunheugährung reichlich Milch- und Buttersäure abweichend von der Tabakfermentation.

Dávalos (356) kultivirte einige Organismen, die auf Havannatabakblättern vorkommen. Der „Schimmel" der Tabakpflanzer soll, nach Verf. eine Hefe sein, die Fäden mit Scheidewänden bilde. Bacillus A 2,5 μ lang, 0,8 μ dick, beweglich, Bacillus B kurz, beweglich, Bacillus C färbt Gelatine und Agar leicht grün, 2,5 μ lang, 1,4 μ dick, Bacillus E 2,5 μ lang, 0,4 μ breit, bildet Zoogloeen, beweglich. Die ersten drei Arten verflüssigen, in Bezug auf den vierten giebt meine Quelle darüber Nichts an. (Centralbl. f. Bacteriol.)

Hänlein (358) findet, dass die Gerbebrühen aus Rinden während des Gerbeprozesses nicht näher bekannte qualitative Veränderungen der Nichtgerbstoffe, Kohlehydrate etc. erfahren, die wohl durch Bakterien verursacht werden. Art und Menge der Nichtgerbstoffe und ihr weiteres Ver-

halten ist erfahrungsgemäss von grossem Einfluss auf den Verlauf des Gerbeprozesses sowie auf die Qualität des fertigen Leders.

Die Zahl der schon in der süssen Gerbebrühe vorhandenen Bakterien steigt mit dem Grade der Säuerung der Brühen mehr und mehr. Frische mit kaltem Wasser hergestellte Gerbebrühe beginnt oft schon nach 6-8 Tagen zu gähren, mit heissem Wasser hergestellte braucht längere Zeit. Aus käuflichen Gerbstoffextrakten hergestellte Brühen gähren, wie Verf. glaubt, deshalb viel langsamer, weil die Bakterien bei Darstellung der Extrakte getötet wurden. Durch Aufkochen stark gährender Brühen wird die Gährung natürlich nur gehemmt, das Verfahren leistet aber doch in der Praxis gute Dienste.

In anderen Fällen züchtet der Gerber unbewusst Bakterien z. B. bei der Unterledergerberei, um eine rasch und kräftig verlaufende Gährung zu erzielen, indem er nur kaltes Wasser zur Auslaugung der Lohe anwendet und die Brühe vor Einwirkung der Wärme schützt. Da einige Gerbmaterialien die zur Gährung nöthige Zahl der Bakterien nicht von vornherein besitzen, so beschleunigt der Gerber die Gährung häufig z. B. bei Gerbholzbrühen, indem er die süsse Brühe mit bakterienreicher saurer Brühe impft. (Chem. Centralbl.)

Wood (370) untersucht die Gährung der Schwellbeize der Gerberei. In dieser aus Weizenkleie und Wasser bestehenden Beize werden die Häute vor dem Gerben bei 30-35° einer Gährung unterworfen, bei der Bakterien CO_2, H_2S, O, H, N, Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure und Milchsäure aus den Glykosen entwickeln, die vorher durch das Ferment Cerealin (siehe Anm. folg S.) aus der Stärke der Weizenkleie gebildet wurden. Die Cellulose der Kleie und die Häute werden durch diese Bakterien nicht angegriffen sondern nur unter ungünstigen Umständen durch fremde Fäulnisserreger. Die entwickelten Gase haben nur eine mechanische Wirkung auf die Häute, indem sie dieselben auflockern, so dass die Säuren einwirken können. (Chem. Centralbl.)

Wood und **Willcox** (371) untersuchen genauer die früher schon von Wood (Methods of bacteriological research with some account of bran fermentation, Journal of the Society of Chemical Industry 31. January and 11. December 1890) studirte Gährung der Kleienbeizen, die in der Lederfabrikation behufs Schwellung der Häute angewendet wird.

Als Produkte der unter den Verhältnissen der Praxis verlaufenden Gährung finden die Verf. folgende Gase:

	A.	B.	C.
$CO_2 + H_2S$	21.9	25.2	42.4
O	1.0	2.1	3.6
H	53.1	46.7	28.2
N	24.0	26.0	25.8

wobei A eine Kleienbeize ohne Häute, B und C solche mit Häuten waren; Versuch B war bei der Probenahme 2-3, C 3-4 Tage im Gange. Die Zusammensetzung der Gase ist also von der Gegenwart der Häute ziemlich unabhängig.

Unter gewöhnlichen Verhältnissen bleibt diese Kleiegährung etwa am 4ten Tage stehen. Die Verf. glauben dass auch hier[1] die bei der Gährung entstehende Ameisensäure in gleiche Theile CO_2 und H gespalten wird.

Ausser dieser Ameisensäure werden Butter-, Essig- und Milchsäure bei der Kleiegährung gebildet. Ein ohne Häute angesetzter Versuch lieferte nach Neutralisation ein Destillat, welches wohl durch Trimethylamin, jedenfalls nicht durch ein primäres Amin oder ein Alkaloid alkalisch reagirte.

In einem Falle fand man in 1000 cc Versuchsbeize 0,0306 g Ameisensäure, 0,2402 Essigsäure, 0,0134 Buttersäure und 0,7907 Milchsäure.

Um zu untersuchen, welche Bestandtheile der Kleie vergohren werden, setzten die Verf. reine Baumwollcellulose in Hefewasser der Einwirkung der Kleiebakterienmischung oder der des von Wood früher aus Kleienbeize durch Verdünnung isolirten Bacterium furfuris aus, die Cellulose wurde aber nicht angegriffen. Weiter wurde festgestellt, dass das Bacterium furfuris feste, lösliche oder verkleisterte Stärke in Wasser unter Zusatz von Nährstoffen nicht angreift.

Die Verf. glauben daher, dass zuerst in der Kleie die Stärke durch Cerealin[2] in Glykosen und Dextrin zerlegt wird und die Glykosen dann vergohren werden. Sie isoliren durch Fällen mit Alkohol aus einem wässerigen Kleieauszug Cerealin, zeigen dass dies aus fester Stärke und Kleister Glykosen und Dextrin bildet und weisen auch diese beiden Produkte in der Kleienbeize im Anfang der Gährung nach. Auch bildet Kleienextrakt aus Kleister Glykosen und Dextrin. Wenn in Kleieninfus die Gährung durch Aether oder Chloroform sistirt wird, so häuft sich die Glykose an.

Wird die Kleie durch Zusatz von Sublimat etc. verhindert zu gähren, so wirkt sie jedenfalls nur sehr wenig auf Haut ein. Andererseits liessen die Verf. die bei der Kleiegährung gebildeten Säuren direkt auf die Häute wirken, indem sie Häute in eine auf 1000 cc 0,5 g Eisessig und 1,0 g Milchsäure (spez. Gewicht 1,210) enthaltende Flüssigkeit legten; die Häute waren dann in $1^1/_2$-2 Stunden so verändert, wie in gewöhnlicher Beize in 12-16 Stunden; nach dem Gerben gaben solche Häute gutes Leder, während ähnliche Versuche mit Schwefel- oder Salzsäure kein gutes Re-

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 230 unter Frankland und Frew.

[2]) Cerealin soll bekanntlich auch bei der Brotgährung eine Rolle spielen. Vgl. Dünnenberger: Botan. Centralbl. 1888.

sultat gaben. Die bei der Kleiegährung neben den Säuren entstehenden Gase wirken auf die Häute demnach nur insofern, als sie dieselben in der Flüssigkeit bewegen und sie zum Aufquellen bringen und so den Säuren das Eindringen erleichtern.

Das von Wood früher durch Verdünnung isolirte Bakterium, welches die Verf. Bacterium furfuris nennen und dessen Gährungsprodukte sie später genauer beschreiben wollen, halten sie für den spezifischen Erreger der Kleiengährung, lassen es aber dahingestellt, ob es noch andere giebt. Die Zellen dieses B. furfuris sind 0,75 × 1,25 μ gross, oft zu Ketten vereinigt, die mit schleimiger Hülle umgeben auf der Oberfläche von Flüssigkeiten eine irisirende Haut bilden; Endosporen besitzt die Form nicht. Flüssigkeiten, in der dieses Bakterium das Wachsthum eingestellt hat, sind leicht zähe. Das B. furfuris erinnert die Verf. deshalb an die des zähen Weines.

Beyerinck (354) behandelt in dieser ganz ausgezeichneten Arbeit einen Theil der Formen-Gruppe Amylobacter, die wegen ihrer selbst unter den Bakterien beispiellosen Vielseitigkeit der physiologischen Eigenschaften schon in den Zeiten wo die Bakteriologie noch in den Kinderschuhen stand das allgemeinste Interesse auf sich lenkte. Und dieses Interesse ist auch fernerhin dem Amylobacter und damit der vorliegenden Arbeit sicher, wenn auch die tiefer eindringende Forschung manche aus jenen früheren Zeiten stammende Legende, die den Namen Amylobacter in der Lehrbuch- und Leitfadenlitteratur auch heute noch begleitet, zu Schanden macht.

Der Verf. glaubt, dass normaler Butylalkohol von vielen Bakterien producirt wird. In kleinen Mengen findet man ihn bei der Buttersäuregährung von Dextrose, Rohrzucker, Glycerin, Mannit, die durch die vom Verf. als Granulobacter saccharobutyricum (identisch mit Bacillus butylicus Fitz) bezeichnete Form ausgeführt wird. In Erde sind Bakterien verbreitet, die aus Würze Butylalkohol bilden. Besonders producirt aber der vom Verf. hier näher zu beschreibende Granulobacter butylicum, der bisher von dem „Buttersäureferment" nicht unterschieden wurde, Butylalkohol.

Verf. fand, dass gewisse Sorten von Getreide- und Gerstenmalzmehl mit kochendem Wasser eingemaischt bei Bruttemperatur in eine Gährung gerathen, bei der Butylalkohol, Kohlensäure und Wasserstoff entstehen. Aus anderen Mehlmustern erhält man dagegen hauptsächlich Butylalkohol und nur wenig Buttersäure. Durch das kochende Wasser werden dabei die Milchsäurebakterien getödtet, die Luft ausgetrieben und die Stärke verkleistert. Die Sporen der Heubacillen, Buttersäure- und Butylbakterien halten einige Sekunden dauerndes Kochen aus. Auf der Oberfläche der Maische an der Luft entsteht dann eine Heubacillendecke, welche die Luft gut abschliesst, während in der Tiefe des Breies die obligat anaerobioti-

schen Bakterien durch Amylase[1] Maltose bilden und diese vergähren. Die reinsten Butylalkoholgährungen gaben Mehle der in Delft kultivirten nackten Sommergersten (Hordeum distichon nudum, H. vulgare himalayense) dann solche von Spelz oder Dinkel, Roggen, Weizen, Gerste in absteigender Reihe, so dass auf letzteren Buttersäurebakterien mehr und mehr vorhanden sind, die auf den erstgenannten Arten ganz oder fast ganz fehlen.

Samen, die Glykose enthalten oder so viel Glukase, dass leicht reichlich Glykose aus der Stärke entsteht, also Reis, Mais, Buchweizen, Johannisbrod, Sorgho geben keine kräftigen Butylalkoholgährungen, sondern gerathen in Buttersäuregährung, weil Glykose leicht zu Buttersäure, schwieriger aber zu Butylalkohol vergährt.

Die Buttersäure- und Butylbakterien gehören zu der Gruppe, die bisher als Amylobacter oder Clostridium butyricum ging. Verf. stellt die schon erwähnte Gattung Granulobacter auf mit folgenden Eigenschaften: Obligat oder temporär anaerobiotische Gährungsbakterien, welche bei vollständiger Anaerobiose sich theilweise oder ganz mit Granulose anfüllen und dann Clostridiumform annehmen. Bei Gegenwart von Sauerstoffspuren entstehen schnellbewegliche Stäbchen, welche mit Jod gelb werden. Die in den Clostridien entstehenden Sporen halten einige Minuten 95-100° aus. Unter den Gährungsprodukten finden sich immer CO_2, meist auch H, aber kein Methan.

Der Verf. unterscheidet folgende Formen:

1. Granulobacter butylicum (vielleicht = Amylobacter I Gruber). Ist das Butylferment vieler Getreidemehle; besonders häufig auf nackter Gerste. Erzeugt aus Maltose normalen Butylalkohol, H, CO_2, keine Buttersäure. Nur anaerobiotisch. Bildet viel einheitliche Diastase, keine Glukase. Sporen gross; Clostridien dick und kurz. Colonien auf Malzwürzegelatine milchweiss, zähschleimig, verflüssigen nicht.

2. Granulobacter saccharobutyricum das echte Buttersäureferment des Zuckers; stets in Getreidemehl und Gartenerde, häufig in Grabenschlamm. Erzeugt aus Glykose und schwieriger aus Maltose Gährungsbuttersäure, in wechselnder Menge normalen Butylalkohol, CO_2, H. Bildet Diastase. Mikroskopisch nicht immer von voriger Form zu unterscheiden, Clostridien meist schmaler, Sporen und Granuloseorgan kleiner. Colonien kleiner und weniger zähe, verflüssigen nicht.

3. Granulobacter lactobutyricum erzeugt als anaerobiotische Clostridiumform aus Calciumlaktat Calciumbutyrat, H und CO_2 mit unbekannten Nebenprodukten aber kein Methan. Verliert sehr leicht die Gährkraft und wird dann zu einer Stäbchenbakterie, welche Bacillus subtilis

[1]) Aus der Gruppe der amylolytischen Enzyme, die Verf. als Amylasen bezeichnet, hebt er folgende hervor: Maltase und Dextrinase, welche zusammen die Malzdiastase darstellen, Ptyalin und Pankreasdiastase, Diastase im engeren Sinne (aus Maismalz, Buchweizen, Nyktagineen, Granulobacter), endlich Glukase.

ähnelt, jedoch Anfangs Calciumlaktat energisch zersetzt unter Bildung von Calciumcarbonat ohne Buttersäurebildung. Diese aerobiotische Form verflüssigt die Gelatine schwach, verwandelt sich nicht in die vorigen Arten, wächst überhaupt nicht in deren Nährlösungen. Die Clostridien sind gewöhnlich sehr kurz und dick, nicht schnell beweglich, die darin enthaltenen Sporen sind klein und mehr rund. Die Granulose färbt sich mit Jod nicht rein blau sondern violettblau. Die aerobiotische Form enthält in Reihen angeordnete Sporen und keine Granulose. Das erzeugte Calciumcarbonat bildet grosse Spherite. Nach einigen Ueberimpfungen hört das Wachsthum bei Luftzutritt gänzlich auf. Auch die anaerobiotische Form veranlasst nur einige Gährungen um dann ohne bekannten Grund einzugehen. Die Form findet sich in spontanen Buttersäuregährungen des Calciumlaktats.

4. Granulobacter Polymyxa. Temporär anaerobiotisch. Wächst bei vollständigem Luftzutritt am besten, gährt nur bei beschränktem Luftzutritt. Luftform bewegliche Stäbchen. Gährform Clostridien mit wenig Granulose und meist mit Sporen. Erzeugt weichen voluminösen Schleim. Vergährt Malzwürze zu CO_2 und etwas Butylalkohol, bildet keinen H und keine Buttersäure. Verflüssigt Gelatine langsam aber vollständig. Bildet etwas Diastase. Ist auf Getreidekörnern heimisch, bildet den Uebergang von Granulobacter zu den Heubacillen.

Andere Formen der Granulobacter-Gruppe konnte Verf. noch nicht kultiviren. Er glaubt, dass auch Leptothrix buccalis zu Granulobacter zu stellen ist. Im Staube orientalischer Getreide finden sich sehr merkwürdige sporenbildende Nebenformen zu Granulobacter Polymyxa, eine davon enthält Glykogen statt Granulose. Im natürlichen System wird Granulobacter in die Nähe der Heu- und Kartoffelbacillen zu stellen sein. Andererseits wird wohl Granulobacter mit Bienstock's Darmfäulnissbakterien nnd anderen sporenbildenden Eiweissfäulnissbakterien systematisch zusammenhängen. Granulobacter dürfte den am höchsten differenzirten Typus des Bakteriensystems vergegenwärtigen. G. butylicum und saccharobutyricum besitzen mehrere Varietäten, was die Unterscheidung erschwert. Verf. will sich daher zunächst mit dem scharf charakterisirten G. butylicum beschäftigen trotzdem G. saccharobutyricum allgemeiner verbreitet ist, in den Getreidemaischen G. butylicum durch Buttersäurebildung aus Glykose[1] leicht verdrängt und deshalb praktisch wichtiger ist.

Eine spontane Butylalkoholgährung erhält man, wenn man in 50-100 cc luftfreies, kochendes Wasser in einem engen Becherglase nach und nach so viel grob gemahlenes nicht gesiebtes frisches Mehl von nackter Gerste

[1]) Johannisbrod, welches in chemischen Handbüchern zur Buttersäurebereitung empfohlen wird, enthält die Sporen beider Bakterien, G. saccharobutyricum bildet aber aus der vorhandenen Glykose Buttersäure und verdrängt daher die andere Form.

einführt, bis das Ganze dickbreiig wird; die letzte Mehlportion darf dabei nur wenige Sekunden 100° ausgesetzt sein. Dann bringt man das Glas sofort in einen Raum von 35-37° und bemerkt dann nach 12 Stunden einige Gasblasen, nach 36 Stunden den Geruch von Butylalkohol. Hält man die angegebenen Temperaturgrenzen genau inne, so erhält man oft eine tadellos reine Gährung, in der sogar die Heubakterien unterdrückt sind.

Bei richtiger Butylgährung werden die Stäbchen des Anfangsstadiums sehr bald durch Clostridien mit Sporen ersetzt, während das durch die Letzteren charakterisirte Höhenstadium bei der Buttersäuregährung viel länger ausbleibt. Je kürzer und dicker die Clostridien, je grösser und länger die Sporen, desto kräftiger ist die Butylalkoholerzeugung. Ganz runde Sporen deuten auf geschwächte Butylalkoholbakterien.

Für chemisch zu untersuchende Butylalkoholgährung kann man, da die Ernährungsbedingungen der in Rede stehenden Bakterien mit denen der Alkoholhefe nahezu übereinstimmen die Malz-Roggenwürze der Presshefefabriken verwenden, doch darf diese nicht stärker wie 10 Saccharometergrad sein. Im Uebrigen bestehen zwischen den Existenzbedingungen der Alkoholhefe und der Butylalkoholbakterien bemerkenswerthe Unterschiede. So kann die Alkoholhefe nur sehr kurze Zeit ohne Luft gähren, weil die in den Zellen enthaltene Sauerstoffreserve nur für die Erzeugung einiger Zellgenerationen ausreicht, während die vollständig anaerobiotische Butylalkoholbakterie bei Sauerstoffzutritt aufhört zu wachsen und zu gähren. Weiter liegt das Temperaturoptimum der Alkoholgährung in Brennereien und Hefefabriken ungefähr bei 30°, das der Butylalkoholgährung bei 37°. Endlich können die genannten Bakterien höchstens 1-2 cc Normalsäure pro 100 cc Flüssigkeit vertragen, während dieselbe Flüssigkeit mit 6-10 cc Normalmilch- oder Normalweinsäure noch gut durch Hefe vergohren wird. Verf. bemerkt dazu beiläufig, dass Presshefe unter sehr günstigen Ernährungsbedingungen in dicken Malzmaischen auch bei 25 cc Normalmilchsäure in 100 cc Maische noch normales Alkoholrendement und ebensolche Gährungswärme geben kann, wobei 2-3 Sprossungen stattfanden. Wenn die Maischen aber weniger Treber enthalten, wirken 12 cc Normalmilchsäure schon stark beeinträchtigend auf das Wachsthum.

Granulobacter butylicum bildet aus Maltose keine Säure, aus Glykose machen nur die schwächlicheren Varietäten der genannten Bakterienform etwas Buttersäure; diese Varietäten bilden den Uebergang zu Granulobacter saccharobutyricum, von dem sie auch in anderer Hinsicht nicht immer sicher zu unterscheiden sind.

Granulobacter saccharobutyricum bildet aus Glykose wie aus Maltose neben wenig Butylalkohol viel Buttersäure.

Um Granulobacter butylicum rein zu kultiviren macht Verf. Würzegelatine durch Kochen völlig sauerstofffrei, lässt sie im Kohlensäurestrome

abkühlen und inficirt sie bei 60-90° mit Sporen, kühlt weiter ab, giesst sie in eine Glasdose und lässt in Kohlensäure erstarren. Dann wird die Schale umgekehrt auf Quecksilber gebracht, auf dem eine möglichst genau in die Glasdose passende Glasscheibe schwimmt[1], Wasserstoff eingeleitet und die letzten Sauerstoffspuren durch Sauerstoffabsorptionsmittel wie Natriumhydrosulfit oder sehr bequem durch eine Kultur von Saccharomyces Mycoderma entfernt. Bei 20° erscheinen dann in der Gelatine nach einigen Tagen die Colonien und zwar bei nicht völligem Sauerstoffabschluss Colonien aus granulose- und sporenfreien Stäbchen oder Fäden, bei völligem Sauerstoffabschluss solche aus Clostridien mit Granulose und Sporen. Werden Gährflüssigkeiten dann aus einer solchen Sauerstoffcolonie inficirt, so bleibt auch während der Hauptgährung die Sauerstoffform des Granulobacter sehr lange bemerkbar und damit verringert sich der Ertrag an Butylalkohol. Das Umgekehrte gilt in Bezug auf die Clostridiumform. Man hat es also hier mit einem durch einen äusseren Umstand hervorgerufenen morphologischen und physiologischen Merkmal zu thun, welches bis zu einem gewissen Grade erblich ist.

Das Problem die beschriebene Gährung in grösserem Massstabe in Gang zu setzen und dabei Impfung und Probenahme ohne Luftzutritt ausführen zu können, hat Verf. in folgender Weise gelöst: Er verwendet einen runden Kolben, an dem der lange dünne Hals nicht oben sondern etwas seitlich entspringt. Stellt man einen solchen Kolben etwas schief, so dass die Flüssigkeit den Hals abschliesst, so drücken die sich ansammelnden Gährungsgase die Flüssigkeit im Halse in die Höhe und man kann so jederzeit Proben zur Untersuchung entnehmen. Bei der Butylalkoholgährung geht übrigens fortwährend mit den Gasen Bakterienschleim an der Halswand in die Höhe, so dass man zu mikroskopischer Untersuchung auch bei senkrecht stehendem Kolbenhalse Proben entnehmen kann. Auf dem Kolbenhalse sitzt das Gasableitungsrohr mittelst übergreifenden Schliffes auf. Der Gasrezipient besteht aus einer Auffangglocke, auf der ein unten und oben durch Glashähne abschliessbarer cylindrischer calibrirter Theil sitzt. Um die Gährkolben mit luftfreier Nährlösung zu füllen, bringt man an dem Halse des Nährlösung enthaltenden Gährkolbens ein gebogenes Rohr an, welches in einen ebenfalls Nährlösung enthaltenden Kolben taucht, und erhitzt beide Kolben zum Sieden. Tritt zu viel Flüssigkeit in den letzteren Kochkolben über so lässt man den Gährkolben etwas abkühlen, wobei die Flüssigkeit zurückströmt; schliesslich zieht man während des Kochens das gebogene Rohr aus dem am Halse des Gährkolbens befindlichen Kautschukschlauch heraus und steckt in letzteres einen Glasstab. So kann der Gährkolben lange aufbewahrt werden ohne dass Luft hineintritt. Um einen

---

[1]) Einen passenden Apparat liefert Mechaniker Giltay in Delft, Holland.

solchen Kolben zu inficiren, drückt man den Kautschukschlauch mit den Fingern zusammen, schiebt einen sterilisirten Trichter hinein, füllt diesen mit der Infektionsflüssigkeit so, dass die Luft aus dem oberen Theil des Gummischlauches verdrängt wird und lässt etwas Flüssigkeit dann in den Kolben laufen. Darauf wird an Stelle des Trichters der Glasstab gebracht und der Kautschukschlauch sammt Glasstab erst durch das Gasableitungsrohr ersetzt wenn der Druck der Gährungsgase im Kolben so gross geworden ist, dass Eintritt von Luft bei dieser Manipulation nicht zu befürchten ist. Die letzten Spuren von Sauerstoff werden durch die Bakterien selbst entfernt. Die unter dem Einfluss einer geringen Sauerstoffspur sich entwickelnden Stäbchen sind schnell beweglich, enthalten Körner und sind zu Ketten verbunden, welche auch ganz kurze Glieder führen. Stäbchen, welche unter Deckglas bei Sauerstoffzutritt längere Zeit beweglich bleiben, gehen in Wasserstoff in Ruhe über. Die während der Entwickelung dem Sauerstoffmaximum ausgesetzt gewesenen Stäbchen bleiben ruhig, so die in Gelatine entwickelten, weil dieses Substrat leicht etwas Sauerstoff zurückhält. Die bei völliger Abwesenheit von Sauerstoff entstandenen Clostridien können sich im Gegensatz zu der Sauerstoffform sowohl bei Abwesenheit von Sauerstoff wie bei Gegenwart dieses Gases bewegen. Im ersteren Falle schwimmen die Bakterien aber nur in einem kleinen Raume hin und her. Um diese Beobachtung auszuführen, leitet Verf. den wie erwähnt an der Halswand des Gährkolbens aufsteigenden Bakterienschleim durch eine unter dem Mikroskope liegende GEISSLER'sche Glaskammer und bringt den sich bewegenden Strom während der Beobachtung durch Schliessen von Quetschhähnen an der Glaskammer zur Ruhe.

Hierdurch ist im Gegensatz zu den Theorien, welche Protoplasmabewegung auf eine Anziehung zum Sauerstoff zurückführen, bewiesen, dass lebende Substanz sich auch bei völliger Abwesenheit von Sauerstoff bewegen kann. Um die biologische Bedeutung dieser Bewegung für die in Rede stehenden Bakterien zu finden, ist an chemotaktische Bewegungen zu denken; die Clostridien werden auf Concentrationsänderungen mit Bewegung reagiren und günstige Stellen dadurch aufsuchen.

Die Sauerstoffform der Butylalkoholbakterien erzeugt keine eigentliche Zoogloea, sondern bildet nur einen leichten Schaum. So lange Sauerstoff da ist, entsteht nur Wasserstoff und Kohlensäure aber kein Butylalkohol. Mit dem völligen Verschwinden des Sauerstoffs tritt die Gährung dann in die zweite Phase ein, welche durch das Einsetzen des Reduktionsvorganges und gewaltige Vermehrung der Bakterien charakterisirt ist. Bald füllen granuloseführende Clostridien die Flüssigkeit so, dass ein Tropfen derselben mit Jod blauschwarz wird. Das mikroskopische Bild dieser Phase ist so ausserordentlich merkwürdig, dass es nach Verf. zu den wundervollsten Objekten der Gährungsphysiologie gehört. Grösse, Be-

weglichkeit und Granulosegehalt der Clostridien wechselt hierbei sehr. Die Granulose häuft sich in einem bestimmten Theile des Clostridiums an, die Spore entsteht auch in einer bestimmten Region und ist von einem Aveolarraum umgeben. Im Innern ist ein Raum, dessen Inhalt so weich ist, dass gelegentlich vorkommende schweifförmige Ansätze des Granuloseorganes darin passive Bewegungen ausführen. Die Sporen gehören zu den grössten bekannten Bakteriensporen und sind oft 2 μ lang und 1 μ dick; sie keimen in mit Paraffin abgeschlossenen Würzetropfen unter Verschleimung der ganzen Sporenwand ohne kapselartiges Aufplatzen derselben.

Wegen der grossen theoretischen Bedeutung der Frage, ob eine ununterbrochene Anaerobiose möglich ist, diskutirt Verf. die Frage, ob die erwähnte, eine so grosse Fruchtbarkeit hinsichtlich Erzeugung lebender Substanz zeigende Flüssigkeit wirklich sauerstofffrei ist. Er findet, dass dies der Fall ist und dass während Hefe nur 20-30 Zelltheilungen ohne Sauerstoff ausführen kann, um dann Wachsthum und Gährung einzustellen und unter Aufplatzen der Zellen abzusterben, dagegen Granulobacter bei vollständiger Abwesenheit von Sauerstoff ins Unbegrenzte weiter wachsen und gähren kann. Er folgert dies daraus, dass Granulobacter zugesetztes Indigblau reduzirt und dann erst recht kräftig gährt, ja dass er dies auch in Nährlösung thut, in der Indigblau durch Natriumhydrosulfit reduzirt und die dann durch weiteren Zusatz letzteren Salzes überreduzirt wurde. Der Verf. glaubt aber, dass Granulobacter den in der Würze in beträchtlicher Menge gebundenen Sauerstoff verwerthen kann, eine Eigenschaft, die er gegen Pasteur der Hefe abspricht. Granulobacter sichert also durch sein Reduktionsvermögen die bleibende Unterhaltung und Fortexistenz der Lebenskraft, was andere Organismen durch Sauerstoffathmung erreichen. Ueberhaupt gähren Obligatanaerobien nur bei Gegenwart von reduktionsfähigem Nährmaterial; Reduktionsvermögen ist denselben eigen.

Das beschriebene intensive Wachsthum des Granulobacter und die damit verbundene stürmische Gasentwickelung in den Gährkulturen dauert nur wenige Tage; die Butylalkoholbildung erlischt dann auch, die Gasbildung kann aber bei Zimmertemperatur noch wochenlang fortdauern. Die Flüssigkeit wird dabei dünnflüssiger, Plasma und Granulose der Bakterien nehmen mehr und mehr ab.

Die Gährungsgase bestehen, wie erwähnt, nur aus CO_2 und H und enthalten kein Methan. Der Verf. bemerkt hierbei, dass auch Granulobacter saccharobutyricum kein Methan bildet, was gegen Hoppe-Seyler's Angabe, dass Bacillus Amylobacter die Sumpfgasgährung erzeuge, zu beachten ist. Granulobacter lactobutyricum erzeugt aus Calciumlaktat nur CO_2 und H und vermag Kohlehydrate nicht recht anzugreifen.

Bezüglich der quantitativen Zusammensetzung der Gährungsgase des Granulobacter butylicum findet Verf. im Anfang der Gährung während des

Vorherrschens der Sauerstoffform und während des Vorhandenseins von Glykose in den Würzen das Verhältniss $CO_2 + 4 H_2$, während der Hauptgährung $CO_2 + H_2$, dann nimmt manchmal die CO_2 zu, bis $5 CO_2 + H_2$ gefunden werden. In den Nachgährungen steigt besonders bei niedriger Temperatur der Wasserstoffgehalt wieder etwas.

Uebrigens geben verschiedene Colonien einer Reinkultur nicht gleich zusammengesetzte Gasgemische, was mit dem Ueberwiegen der Sauerstoff- oder Clostridienform zusammenhängt. Da aber auch bei Vorherrschen der Sauerstoffform Indigblau zu Indigweiss sofort reduzirt wird, kann hier nur der als Reserve in den Bakterien oder gebunden in der Würze vorkommende Sauerstoff eine Rolle spielen. Eine Formel für die Butylalkoholgährung lässt sich nach dem Gesagten nicht aufstellen; die massenhaft entstehende Bakteriensubstanz spielt unter den Culturprodukten eine zu grosse Rolle. Bei „Butylansätzen", welche mit trocknen Butylbakterien inficirt wurden, konnten 1-3 % des Gerstenmehls an Butylalkohol abdestillirt werden. Aus guten Hauptgährungen erhielt Verf. 1-2 % Alkohol auf Mehl berechnet. Der Alkohol siedet bei 117° C und löst sich bei 15° in 10 Theilen Wasser, woraus er durch Chlorcalcium abgeschieden werden kann. Beigemengt ist ihm nur eine kleine Menge eines niedriger siedenden Alkohols vielleicht Propylalkohol.

Aus kräftigen Butylalkoholgährungen, die durch intensive Bakterienentwickelung zähschleimig werden, kann die Zoogloea durch Fällen mit Alkohol (bis 70 % des Gemisches) isolirt werden. Die gefällte, leicht an einem Glasstabe haftende Masse kann auf einer Glasplatte abgepresst, bei 37° getrocknet und pulverisirt werden. Die Sporen bleiben dabei lebendig, die Bakterien werden nur theilweise getödtet. Aus 1 Liter Würze von 11° am Saccharometer erhielt Verf. 30 g abgepresste Zoogloea, 7 g lufttrockene oder 6 g bei 110° getrocknete Bakterien. Dieselbe Würzemenge giebt merkwürdigerweise auch 30 g Bierhefe bei Anwendung von Lüftung. An Stickstoff fand sich in der bei 110° getrockneten Bakterienmasse 4-4,4 % d. h. 25-27,5 % Eiweiss, während gute Presshefe doppelt soviel enthält. Enthalten die lebenden Bakterien 80 % Wasser, so ist in den übrigen 20 g Bakteriensubstanz 5,59 g Eiweiss enthalten, welches nach Wasserimbibition den Plasmakörper der Bakterien darstellt. Das Granuloseorgan beträgt 25-50 % des Gesammtkörpers, muss also auch von protoplasmatischer Grundmasse sein; die Sporen nehmen 10 % des Raumes des Bakterienkörpers ein.

Die trockene Bakterienzoogloea bewahrt mehrere Jahre ihre Lebenskraft.

Granulobacter butylicum bildet Diastase, welche auch in den getrockneten Zoogloeen enthalten ist. Diese Diastase bildet aus Stärke zuerst viel Dextrin, welches bald durch Maltose ersetzt wird; sie ist ein einheitlicher

Körper, während die Zuckerbildung durch Malzdiastase auf der Zusammenwirkung zweier Enzyme[1]) beruht. Malzdiastase und Granulobacterdiastase haben das Temperaturoptimum der Amylolyse bei 60°, beide werden durch eine Spur Säure aktivirt, durch Alkali stark beeinträchtigt, während Ptyalin und die damit identische Pankreasdiastase umgekehrt durch Alkali gefördert werden. Die durch Granulobacterdiastase erzeugte Maltose ist wohl identisch mit der gewöhnlichen Maltose, jedenfalls bilden die Maltosehefen daraus Alkohol und Kohlensäure, während die Glykosehefen (S. Mycoderma) und Milchzuckerhefen dieselbe nicht assimiliren und nicht vergähren. Die Erythrodextrinbildung geht bei Einwirkung der Granulobakterdiastase schneller vorbei, wie bei der der Gerstenmalzdiastase, während Maisdiastase der ersteren in dieser Beziehung nahe steht. Gewöhnliche Malzdiastase enthält etwas Glukase und erzeugt daher Spuren von Glykose, während Granulobacterdiastase diesen Zucker nicht bildet.

Der Verf. prüfte dann weiter die alte Angabe, dass Bacillus Amylobacter Cellulose auflöse. Er findet, dass weder Granulobacter butylicum noch dessen Diastase Cellulose aus Filtrirpapier, Datteln, Tropaeolumsamen, Bastfasern oder Radieschenschnitten angreift.

Der Verf. erinnert hier an die entsprechende Angabe von VAN SENUS, wonach wenigstens zwei Bakterien gegenwärtig sein müssen, um Celluloseauflösung zu ermöglichen[2]. Verf. glaubt, dass Granulobacter Polymyxa eine derselben sei. Ob die Cellulosegährung mit der Methanbildung zusammenhängt, wie HOPPE-SEYLER meint, ist nach Verf. auch noch unentschieden. Er glaubt, dass in den Versuchen des ebengenannten Autors das Methan auch aus Eiweisskörpern entstanden sein könne.

Der Verf. betont hier von Neuem[3] seine Ansicht, dass das eigentliche Wesen der Gährungen in der Gasbildung liege und andere von den Bakterien verursachte Umsetzungen wie Pigmentbildung, Reduktion, Oxydation, Lichtwirkung nicht zu den Gährungen zu rechnen seien. Von diesem Gesichtspunkte aus seien die Gährungen, bei denen Wasserstoff entsteht die typischsten, weil der wenig lösliche Wasserstoff dem Ideal eines Gases besser entspreche, als die Kohlensäure. Da nun die gährungserregenden Organismen in der Natur unter der Erdoberfläche, im Schlamm u. s. w. also an Orten, wo neuer Sauerstoff kaum hinzudringen vermag vorkommen, so liegt die biologische Bedeutung der Gasbildung darin, dass die Gase die Gährungsorganismen wieder zum Sauerstoff hinbringen, denn selbst anaerobiotische Organismen können auf die Dauer nur Gährung erregen, wenn sie zeitweilig mit freiem Sauerstoff in Berührung kommen. Deshalb reissen die Gährungsgase Bakterienzoogloeen und Hefenschaum an die Oberfläche

[1]) Koch's Jahresbericht I, 1890, p. 155.
[2]) Ebenda I, 1890, p. 137.
[3]) Ebenda III, 1892, p. 110.

der Flüssigkeiten. Diese Vorstellung steht nicht im Widerspruch mit dem Verhalten des Granulobacter butylicum denn dieser vermag wohl in Würze, die die Eigenthümlichkeit hat viel Sauerstoff zu binden, unbegrenzt lange anaerobiotisch zu gähren, in ungünstigerer Nährlösung aber, wie z. B. in solcher aus Leitungswasser, Pepton und Stärkekleister entwickelte er sich aber bei Luftzutritt viel besser wie bei Luftabschluss.

Die vorliegende Untersuchung giebt dem Verf. Veranlassung zu einer allgemeinen Diskussion über Anaerobiose, Reduktionsfunktion und Gährung.

Es müssen nach ihm zwei Formen der fakultativen Anaerobiose die permanente und die temporäre unterschieden werden. Ein Beispiel für erstere bietet das Milchsäureferment der Gährungsindustrien, für letztere die Alkoholhefe. Diese führt bei völligem Sauerstoffabschluss wie bemerkt nur wenige Sprossungen und etwas Gährung aus auf Kosten einer festen gebundenen Sauerstoffreserve; ist diese ausgenutzt, so hört bei Sauerstoffabschluss Wachsthum und Gährung auf und nach längerer Zeit erfolgt der Tod. Aehnlich verhält sich Mucor racemosus. Um dieses Verhalten der Hefe zu zeigen, bringt Verf. in einen der oben beschriebenen auch für Butylalkoholgährung benutzten, mit ausgekochter sauerstofffreier Würze gefüllten Kolben eine Spur, in einen anderen eine grössere Menge Bierhefe. Bei 28 ^{0} hört die Gährung im ersteren Kolben bald auf, während sie im zweiten auf Kosten der Sauerstoffreserve der grösseren Anzahl von Hefezellen zu Ende geführt werden kann.

Andererseits können nach Impfung mit einer minimalen Spur des permanent fakultativ anaerobiotischen Milchsäureferments der Gährungsindustrie grosse Mengen filtrirter sauerstofffreier Schlempe mit Rohrzucker völlig vergähren. Dabei ist aber zu bemerken, dass das Milchsäureferment reduzirt und bei Abwesenheit reduktionsfähiger Körper nicht wächst. Auch hier wird daher Sauerstoff zeitweise zugeführt werden müssen und dafür kann die Gährfunktion dienlich sein. Den Zusammenhang der Reductionsfunction mit der Anaerobiose denkt sich Verf. daher folgendermassen:

Temporäre Anaerobiose: Die Reduktionsfunktion kann fehlen, wie bei Hefe oder vorkommen wie bei Granulobacter Polymyxa.

Fakultative permanente Anaerobiose: Reduktion kräftig wie bei dem Milchsäureferment der Gährungsindustrie.

Obligate Anaerobiose: Reduktion kräftig wie bei Granulobacter butylicum.

Der Satz, dass alle lebenden Zellen unter Umständen reduziren ist soweit es sich um einen ausserhalb der Zelle nachweisbaren Effekt handelt sicher unrichtig. Auch manche Bakterien reduziren nicht (Knöllchenbakterien); Gährung ist auch nicht immer mit Reduktion verbunden, denn es giebt Gährungsbakterien, die Indigschwefelsäure oder Nitrate nicht reduziren. Die falschen Angaben über Reduktionsfähigkeit der Alkoholhefe

sind auf die stark reduzierenden Milchsäurefermente die steten Begleiter der Bier- und Presshefe zurückzuführen. Alle obligat und wahrhaft fakultativ anaerobiotischen Formen müssen dagegen reduziren, weil ununterbrochene Anaerobiose nur möglich ist bei Vorhandensein der Reduktionsfähigkeit und Gegenwart reducirbaren Materiales. Dass dagegen wahre Anaerobien bei Sauerstoffzutritt wachsen, wenn kein reducirbarer Körper da ist, zeigt das obenangeführte Beispiel des in Peptonstärkelösung wachsenden Granulobacter.

Wehmer (364) fand gelegentlich zwei Schimmelpilze, die Penicillium äusserst ähnlich sind, sich von diesem aber dadurch unterscheiden, dass sie auf kohlehydrathaltigen Substraten reichlich Citronensäure bilden. Er nennt sie Citromyces Pfefferianus und glaber.

Die Conidienträger dieser auf Nährlösungen deckenbildenden Gattung tragen auf mehr oder minder angeschwollenem Ende einige wenige Sterigmen, an denen lange Conidienreihen entstehen, die in ihrer Gesammtheit der Decke eine hellgrüne bis tief graugrüne Farbe verleihen. Manchmal bleiben die Decken auch ganz oder fast ganz steril. Vor der Keimung schwellen die Conidien auf das Doppelte an und es tritt dann gewöhnlich ein Keimschlauch hervor, ohne dass Durchbrechung einer Sporenwand bemerkbar würde.

Ausserdem beobachtete Verf. ganz unregelmässig auf manchen Decken von C. Pfefferianus runde knopfartige weisse bis wachsgelbe, weiche, 3-9 mm Durchmesser erreichende Gebilde, die zuerst ein loses, bald dicht werdendes Fadengewirr darstellen. Wenn er auch dann im Innern manchmal kugel- oder birnförmige Gebilde fand, deren Inhalt sich später zu runden Körpern zusammenzog, so genügen diese Beobachtungen auch ihm nicht zur Begründung der Annahme, dass es sich hier um unreife Schlauchfrüchte handele. Möglich ist auch, dass jene beschriebenen Gebilde theils solche Schlauchfrüchte, theils Sklerotien darstellen. Selten beobachtete Verf. bei den genannten Spezies auch Gemmenbildung und hefeartige Sprossung; diese Hefe ergab bei Aussaat in neue Nährlösung zunächst nur dieselben Hefeformen unter Trübung der Flüssigkeit; relativ selten kam es zu Deckenbildung.

Durch morphologische Details unterscheiden sich die genannten beiden Spezies fast gar nicht, wohl aber durch physiologische.

Citromyces Pfefferianus besitzt ungefärbte, 3-4 μ manchmal bis 10 μ dicke, mehrere cm lange reichverzweigte, durch weitständige Querwände septirte Hyphen, die zu festen, oberseits kurzwolligen Decken verflochten sind. Fertile Hyphen ebenso dick, aufstrebend, meist ohne Septen einfach oder zu verzweigten Systemen verbunden; Länge der Conidienträger im Mittel 70 μ; 5-10 Sterigmen wirtelig inserirt, scheitelwärts weisend 9-14 μ lang, 2-4 μ dick, zugespitzt mit rundlicher Basis. Conidien stets

kugelrund, glatt, hyalin, 2.3-2.8 μ Durchmesser, in Massen hell- bis apfelgrün, im Alter grau bis bräunlich. Decken anfänglich lange Zeit oder dauernd schneeweiss, sonst langsam ergrünend später freudig grün, im Alter grau bis braun; Faltung der Decke seltener wie bei der anderen Form. Unterseite der Decke auch im Alter hell, glatt, schlüpfrig. Wächst auf Zuckersaft, Früchten, Eiweiss, Kleister etc., bildet reichlich Citronensäure. Vorkommen besonders auf Früchten (Citronen) und citronensauren Zuckerlösungen, wohl ziemlich verbreitet (Leipzig, Hannover, Thann im Elsass). Keimungsgrenztemperaturen 4-29°, Optimum 15-18°.

Citromyces glaber. Dimensionen der Hyphen, Conidien etc. wie bei der ersten Spezies. Decken oberflächlich fast glatt (nicht wollig), weit schneller ergrünend, Conidien in mehreren mm hohen Massen auf der Decke erzeugend, Farbe der Decken daher dunkler grün. Unterseite älterer Decken bräunlich bis dunkelbraun, oft rissig und abblätternd. Decken auf zuckerreichem Substrat oft stark wellig gefaltet, Keimungsgrenzen 8-32° C, Optimum 20-25°. Färbt zum Unterschied von der ersten Spezies gekochten Reis gelb und bildet mehr Citronensäure. Sonst Alles wie bei voriger Spezies.

Die vorliegenden Beobachtungen scheinen dem Verf. die Aufstellung einer neuen Gattung Citromyces zu rechtfertigen, die er zwischen Aspergillus und Eurotium einordnet in folgender Reihe:

1. Aspergillus. Sterigmentragende Hyphen mit kolbig bis kugliger, meist allseitig von radial ausstrahlenden einfachen, simultan entstehenden Sterigmen besetzter Endanschwellung. Durchmesser und Wanddicke übertreffen oft diejenige der zarten vegetativen Hyphen beträchtlich. Fruchtkörper (Sklerotien) meist unbekannt.
2. Sterigmatocystis. Sterigmen verzweigt, sonst wie Aspergillus.
3. Eurotium. Conidienträger wie Aspergillus doch zarter und den vegetativen Fäden ähnlicher. Früchte häutige Perithecien.
4. Citromyces. Conidienträger unverzweigte sehr zarte einfache bis kolbig oder kuglig angeschwollene Fäden mit wirtelig inserirten wenig zahlreichen unverzweigten succedan entstehenden Sterigmen. Früchte?
5. Penicillium. Conidienträger zarte meist baumartig oder wirtelig verzweigte einfach fädige Gebilde. Zweige mit einem Wirtel succedan entstehender Sterigmen auf dem nie kolbig kugeligen Scheitel. Fruchtkörper meist unbekannt, sonst harte knollige oder weiche fädige perithecienartige Gebilde.

Die Citronensäurebildung aus Zuckerarten durch Citromyces bietet chemisch insofern Interesse, als die bisher als Gährungsprodukte bekannten Säuren nur solche mit normaler Kohlenstoffkette waren. Im vorliegenden Falle handelt es sich um den ersten Gährprozess, bei dem eine Tricarbonsäure entsteht, welche gleichzeitig dieselbe Anzahl von Kohlenstoffato-

men, wie das Ausgangsmaterial (Traubenzucker) besitzt. Im Uebrigen war bisher von durch Pilze in grösserer Menge gebildeten organischen Säuren nur Oxalsäure[1] bekannt.

In den Citromyceskulturen entstehen schnell 4 % und mehr Citronensäure, die späterhin wieder langsam verzehrt wird so dass der letzte Rest der Säure erst nach 2-3 Monaten verschwindet. Die Aehnlichkeit dieses Verlaufes mit dem der Essiggährung liegt auf der Hand.

Auch bei der Citronensäuregährung laufen höchst wahrscheinlich von Anfang an beide Prozesse nebeneinander her und die gefundene Säuremenge entspricht der Differenz beider. Durch Neutralisation wird die gebildete Säure festgelegt und deshalb mehr Säure gefunden.

Durch die verschiedene Versuchsanordnung wird nur die Säurebildung nicht die Zerstörung derselben wesentlich beeinflusst. Die Citronensäurebildung ist nicht nothwendig mit Stoffbildungsvorgängen verknüpft und findet noch oberhalb des Wachsthumtemperaturmaximums bei 30-35° statt wo Stoffbildung aber nicht Stoffzertrümmerung sistirt ist; andererseits kann Citromyces wachsen ohne Säure zu bilden. Stoffwechsel giebt Veranlassung zur Säurebildung und deshalb werden die optimalen Bedingungen beider zusammenfallen. Aber die Grenzen der Bedingungen des Stoffwechsels können weiter sein, wie die der übrigen Lebensfunktionen und für den Stoffzerfall kann das Optimum höher liegen.

Steigerung der Temperatur auf 15-20° C belebt die Citronensäurebildung stark; dass umgekehrt die Oxalsäuregährung durch niedere Temperatur begünstigt wird, hat wohl in der leichten Oxydirbarkeit dieser Säure seinen Grund.

Chlorverbindungen wie Kochsalz und Salmiak begünstigen das Wachsthum des Citromyces und die Säureabspaltung aber nicht die Säurezersetzung, während bei den Oxalsäure bildenden Pilzen gerade letzteres der Fall war.

An Nährstoffen sind die Zuckerarten die günstigsten; auf Kosten solcher Kohlehydrate, die erst vom Pilze verzuckert werden müssen geht die Säurebildung viel langsamer vor sich. Kleine Sphärokrystalle von citronensaurem Kalk entstehen übrigens auch im Pilzgeflecht, wenn man Citromyces auf abgekochten grünen Blättern kultivirt.

Keinen Einfluss auf Bildung und Zerstörung der Citronensäure hat das Licht. Zu bemerken ist auch unter Hinweis auf mannigfache Erfahrungen an Bakterien und Hefen, dass Citromyces durch fortgesetzte Kultur keine Einbusse an der Fähigkeit der Säureproduktion erleidet. Wachsthum und Säureproduktion dieser Pilze ist an Sauerstoffzutritt gebunden und die Versuche schliessen ausserdem die Möglichkeit ziemlich sicher aus

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 110 und 233.

dass etwa ein beschränkter Sauerstoffzutritt den Anstoss zur Citronensäuregährung geben müsse.

Zur Ueberführung von 50 g Dextrose in Citronensäure würden 10 Liter Sauerstoff nöthig sein und der Citromyces vermag dazu keinen chemisch gebundenen Sauerstoff zu verwenden. Die in Rede stehende Gährung kann also als Oxydationsgährung bezeichnet werden.

Merkwürdigerweise ist Citromyces, der sich auch bei Zusatz von bis zu 20 % Citronensäure wenn auch langsam entwickelt, gegen Salz- und Schwefelsäure so empfindlich, dass 0,12 % Schwefelsäure schon die Keimung der Conidien verhindert und die gleiche Menge Salzsäure erst nach Wochen dürftige Entwickelung zulässt. Gegen Gifte ist der Pilz auch ziemlich widerstandsfähig, da selbst bei 1 % Kupfersulfat in 10 % Zuckerlösung langsame sterile Vegetation möglich ist.

Bezüglich der chemischen Seite der Frage ist zu bemerken, dass Citronensäure nicht durch einfache Sauerstoffaufnahme aus der Dextrose entstehen kann, da dann nur Verbindungen mit normaler Kohlenstoffkette entstehen würden. Es muss also wenigstens Umlagerung eines Kohlenstoffatomes eintreten. Vielleicht wird die Citronensäure auch aus unbekannten Verbindungen höherer Zusammensetzung abgespalten.

Die Bedeutung der Citronensäure für den Stoffwechsel des Citromyces kann nach Verf. nur eine untergeordnete sein, weil die Säure ohne Nachtheil für den Pilz während der Gährung als Kalksalz festgelegt werden kann. Andererseits kann aber die Säure im Stoffwechsel verbraucht werden, denn auf Citronensäure mit Mineralsalzen wächst der Citromyces nicht ganz schlecht. Da andererseits bei der Wiederzersetzung der Citronensäure diese wenigstens zu einem guten Theile in CO_2 übergeht, so ergiebt sich eine nähere Beziehung dieses Vorganges zum Athmungsprozess, wobei es sich im Einzelnen um eine blosse Zerspaltung (Abspaltung von Carboxylgruppen) oder gleichzeitige Oxydation handeln kann. Die Bildung der Citronensäure, die ein Mittelglied zwischen dem verbrauchten Kohlehydrat und der durch Weiterzersetzung der Säure entstehenden Kohlensäure bildet, wäre also eine unterbrochene Athmung.

Hinsichtlich des Vorkommens der Citromyces-Spezies im Freien ist zu bemerken, dass dieselben wohl ganz vorzugsweise in gewissen Erzeugnissen der menschlichen Thätigkeit ein besonders günstiges Substrat finden. Sie treten aber auch auf absterbenden zuckerreichen sauren Früchten auf und sind in Wohnräumen verbreitet. Günstige Substrate sind auch gekochtes Weissbrod und Zuckergelatine. Besonders üppig wachsen die Pilze auf zuckerhaltigen Flüssigkeiten. Auf den für sie minderwertigen festen Substraten werden sie durch andere Schimmelpilze etc. leicht unterdrückt. Andererseits genügt es auf Zuckerlösung eine einfache Schicht Filtrirpapier schwimmen zu lassen, um die Wachsthumsintensität des Citromyces

sehr herabzudrücken. Das erwähnte sehr verschiedene Verhalten dieser Pilze gegen verschiedene Säuren zeigt, dass es für die Entwickelung eines Organismus oft weniger auf die Reaktion des Substrates als auf die Natur des Körpers, welche diese veranlasst, ankommt.

Ergiebige Entwickelung der Citromyces ist an Temperaturen um 20° gebunden, unter 4° unterbleibt die Keimung, über 35° wird sie wochenlang zurückgehalten. In Kohlensäureatmosphäre unterbleibt Keimung und Weiterentwickelung; merkwürdigerweise zeigte sich die Keimung von in CO_2 vorher gehaltenen Sporen nachher in Luft verlangsamt und die entstehenden Decken bildeten keine Conidien. Es kann hier der temporäre Sauerstoffmangel oder die Kohlensäurewirkung direkt in Frage kommen. Aehnlich benachtheiligt zeigte sich das vegetative Wachsthum, wenn die Sporen vorher mehrere Tage in Temperaturen oberhalb der Keimungsgrenze (33°) gehalten waren. Die Conidienbildung ist auch durch anorganische und organische Säuren, Kupfersulfat, Chlorcalcium und Kochsalz (von 2 % aufwärts) zu unterdrücken, während letztere bis zu 5 % das Wachsthum nicht alteriren, unterhalb aber begünstigen. Licht und Temperatur innerhalb der Keimungskardinalpunkte ist ohne Einfluss auf Conidienbildung.

In Concurrenz mit anderen Organismen muss Citromyces oft das Feld räumen, so auf eiweissreichen Substraten den Bakterien; alkoholbildende Sprosspilze unterdrücken in Nährlösungen, wenn die Citronensäure neutralisirt wurde, selbst schon entwickelte Decken von Citromyces. Schimmelpilze sind — wie erwähnt — wenigstens auf Lösungen dem Citromyces nicht gefährlich; die gebildete Citronensäure ist dabei aber ein schlechtes Schutzmittel, da viele Schimmelpilze auf Citronensäurelösungen mit Vorliebe auftreten. Bemerkenswerth ist aber, dass der Schimmelpilz Penicillium luteum Zukal ein erklärter Parasit der Citromyces ist und wo Decken derselben an der Luft stehen mit fast absoluter Sicherheit auftritt. Das Mycel des Penicilliums durchwächst schnell die Decken des Citromyces und tödtet die berührten Stellen wohl durch Abscheidung eines spezifischen Stoffes, wobei die getödteten Mycelpartien sich braun färben.

Wehmer (367) machte im Anschluss an diese von ihm beschriebene Citronensäurebildung durch Schimmelpilze einige Beobachtungen über Löslichkeit und Formen des citronensauren Kalkes, auf die hier verwiesen sei. Im Anschluss daran diskutirt er das Verhältniss der Citronensäurebildung zur Athmung, wie er dies früher für Oxalsäure that[1]; er knüpft hier an Warburg's Beobachtungen über die Fettpflanzen an und spricht sich auch für eine direktere Beziehung der Kohlensäureentbindung zur Säurezersetzung aus, wenn schon ein Theil der Kohlensäure complicirteren Prozessen, auch dem Eiweisszerfall entstammt. Ebenso hält er dafür, dass die

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 156.

Citronensäure und Oxalsäure mehr oder weniger direkt aus dem Kohlehydrat entstehen, ohne dass stickstoffhaltige Verbindungen als Mittelglieder nothwendig sind, so dass es sich im Wesentlichen um eine ohne chemische Mitwirkung des Plasmas unter Sauerstoffverbrauch sich abspielende Reaktion handelt. Bezüglich der weiteren Ausführungen hierüber muss wieder auf das Original verwiesen werden.

Dass die Citronensäurebildung aus Zucker einigermassen direkt vor sich geht, folgt daraus, dass die chemische Constitution des Zuckermolekuls bestimmend auf den Prozess einwirkt; eine glatte Oxydation kann nach der Constitution der Säure freilich nicht vorliegen; der Vorgang ist etwas verwickelter. Da je nach den gewählten Bedingungen die gebildete Citronensäure einmal erhalten bleibt, im anderen Falle zerstört wird und in beiden Fällen das Wachsthum dadurch nicht merklich beeinflusst wird, so ergiebt sich, dass die zersetzte Säure als belanglos für Stoffbildungsvorgänge so gut wie ganz im Athmungsstoffwechsel zertrümmert wurde und also an der Kohlensäureproduktion stark betheiligt war. Complizirte Beziehungen zwischen Citronensäure und Kohlensäure hält Verf. wiederum nicht für wahrscheinlich.

Bei Gelegenheit der Untersuchung der Citronensäure produzirenden Schimmelpilze fand Verf. in den Decken des sogenannten „Penicillium glaucum“ eine ganze Reihe grüner Schimmelpilzformen und begann deren vergleichende Bearbeitung.

VI. Fermente.

372. **Béchamp, A.,** Faits pour servir à l'histoire de la gomme arabique. Sur la présence d'une zymase dans la gomme Sénégal (Bull. de la soc. chim. [Paris] Serie 3, t. IX, 1893, p. 45). — (S. 281)

373. **Bourquelot, E.,** Les ferments solubles de l'Aspergillus niger (Bull. de la soc. mycologique de France t. IX, 1893, fasc. 4).

374. **Bourquelot, E.,** Présence et rôle de l'émulsine dans quelques champignons parasites des arbres ou vivant sur le bois (Comptes rendus de la soc. de biol. 1893, p. 804). — (S. 284)

375. **Bourquelot, E.,** Présence d'un ferment analogue à l'émulsine dans les champignons et en particulier dans les champignons parasites des arbres ou vivant sur le bois (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVII, 1893, p. 383). — (S. 284)

376. **Bourquelot, E.,** Remarques sur les ferments solubles sécretés par l'Aspergillus niger v. Tgh. et le Penicillium glaucum Link (Comptes rendus de la soc. de biol. 1893, p. 653). — (S. 276)

377. **Bourquelot, E.,** Inulase et fermentation alcoolique indirecte de l'inuline (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVI, 1893, p. 1143; Comptes rendus de la soc. de biol. 1893, p. 481). — (S. 283)

378. **Bourquelot, E.,** Sur un ferment soluble nouveau dédoublant le tréhalose en glucose (Comptes rendus de l'acad. [Paris] t. CXVI, 1893, p. 826; Comptes rendus de la soc. de biol. 1893, p. 425). — (S. 283)

379. **Cambier, R.,** Contribution à l'étude de la fermentation ammoniacale et des ferments de l'urée. Urobacillus Schuetzenbergii β (Annales de micrographie 1893, p. 322). — (S. 285)

380. **Cavazzani, E.,** Zur Kenntniss der diastatischen Wirkung der Bakterien (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XIII, 1893, p. 587). — (S. 281).

381. **Dott, B.,** Die Bestimmung der Wirkung der Diastase auf Stärke (Pharmaceutical Journal, Transactions vol. LIII, p. 213). — (S. 280)

382. **Effront, J.,** Ueber die chemischen Bedingungen der Diastasewirkung (Moniteur scientifique [Quesneville] t. VII, 1893, p. 266). — (S. 276)

383. **Effront, J.,** Bemerkungen über Glukase und Diastase gelegentlich

einer Diskussion (Bull. d. l'assoc. belge des Chimistes t. VII, 1893, no. 3). — (S. 281)

384. **Freudenreich, E. de,** De l'action du fluorure de sodium sur la présure (Annales de microgr. t. V, 1893, p. 235). — (S. 291)

385. **Gérard, E.,** Présence dans le Penicillium glaucum d'un ferment agissant comme l'émulsine (Comptes rendus de la soc. de biol. 1893, p. 651; Journal de Pharm. et de Chim. [5] t. XXVIII, p. 11). — (S. 285)

386. **Gorini, C.,** Das Prodigiosus-Labferment (Hygien. Rundschau 1893, p. 381). — (S. 290)

387. **Gorini, C.,** Il fermento coagulante del bacillo prodigioso (Rivista d'igiene e sanità pubbl. 1893, p. 549).

388. **Green, R.,** On vegetable ferments (Annals of Botany vol. VII, 1893, no. 25, March). — (S. 276)

389. **Jegorow, W.,** Ueber Weizendiastase (Journal der russ. phys.-chem. Gesellschaft Bd. XXV, p. 80). — (S. 279)

390. **Jegorow, W.,** Ueber die künstliche Diastase von Reychler (Journal d. russ. phys.-chem. Ges. Bd. XXV, p. 83). — (S. 279)

391. **Jentys, S.,** Die Schwierigkeiten des Nachweises von Diastase in den Blättern und Geweben (Bull. de l'acad. des sciences de Cracovie 1892, p. 375). — (S. 279)

392. **Lintner, C. J.,** Untersuchungen über den Abbau der Stärke (Ber. d. chem. Gesellsch. Bd. XXVI, p. 2533). — (S. 279)

393. **Maumus,** Sur la transformation de l'amidon végétal en sucre par le bacille du charbon (Comptes rendus de la soc. de biol. 1893, p. 107). — (S. 281)

394. **Miquel, P.,** Etude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée [Suite] (Annales de micrographie t. V, 1893, p. 162). — (S. 285)

395. **Morat, P.,** Action de la nicotine sur quelques fermentations indirectes (Comptes rendus de la soc. de biol. 1893, p. 116). — (S. 276)

396. **Morris,** Ueber die Glukase (Transactions of the Institute of Brewing 1893, March). — (S. 282)

397. **Röhmann, F.,** Die Verzuckerung von Stärke durch Blutserum (Berichte d. chem. Ges. Bd. XXV, p. 3654). — (S. 281)

398. **Schleichert, F.,** Das diastatische Ferment der Pflanzen. Eine physiologische Studie (Nova acta der kais. Leop. Carol. d. Akad. d. Naturf.) 4°. 88 p. Leipzig 1893, Engelmann.

399. **Vuilsteke, J.,** Zum Studium der Diastase (Bull. de l'académie royale de Belgique [3] t. XXIV, p. 577). — (S. 280)

Allgemeines.

Morat (395) zeigt, dass Nikotin die Wirkung von Invertin und Emulsin hindert oder aufhebt während es die diastatische Wirkung des Speichels wenig oder gar nicht stört.

Bourquelot (376) findet, dass Aspergillus niger auf Raulin'scher Flüssigkeit ausser Diastase, Invertin, Maltase, Trehalase und Inulase auch Emulsin liefert und dass letzteres nach seiner Zerstörungstemperatur mit dem in Mandeln vorkommenden identisch zu sein scheint.

Trehalase fand Verf. auch in einigen anderen Pilzen und in gekeimter Gerste, wohin sie vielleicht aus den bei der Keimung sich ansiedelnden Schimmelpilzen gelangte. Diese Beobachtung und die verschiedenen Resultate der Autoren bezüglich der Vergährung von Trehalose durch Hefe führt den Verf. auf den Gedanken, dass vielleicht die Hefe nur dann Trehalose vergähren kann, wenn sie aus der zur Hefeanzucht benutzten Malzwürze noch etwas Trehalase enthält. Er fand bei bezüglichen Versuchen mit sauber ausgewaschener Unterhefe, dass bei Zusatz von Trehalase die Trehalose schnell und glatt vergohr, während ohne diesen Zusatz nur nach einigen Tagen und nur kurze Zeit sich einige Gasblasen zeigten.

Bezüglich Penicillium findet er, dass dieses ausser Invertin, Diastase, Maltase auch Inulase und Trehalase bildet, wie Aspergillus; nur bildet Penicillium alle Kohlehydratfermente in geringerer Menge wie Aspergillus; dafür bildet aber nach Duclaux Penicillium unter Umständen Labferment und Casease, was von Aspergillus nicht bekannt ist.

Im Hinblick auf die vielseitige Fermentbildungsfähigkeit dieser Pilze hat ihre allgemeine Verbreitung nichts Wunderbares.

Green (388) giebt hier eine ausführliche Zusammenstellung über pflanzliche Fermente auch die der Bakterien, die Zymogene, die Constitution und Reaktionen der Fermente und die Beziehungen der Enzyme zu den organisirten Fermenten.

Diastase und Glukase.

Effront[1] (382) untersuchte die Rückstände, welche eine aus Mais Glykose darstellende Chicagoer Fabrik liefert, weil dieselben einen in kaltem Wasser löslichen, durch Kochen nicht unwirksam zu machenden Bestandtheil enthalten, der die diastatische Wirkung eines Malzauszuges steigert. Da jene Maisrückstände Asparagin, schwefelsaure und phosphorsaure Salze des Calciums, Kaliums, Magnesiums und Aluminiums enthalten, so prüft Verf. den Einfluss dieser Substanzen auf Malzauszug.

[1]) Vgl. Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 253.

Zuerst wurde Asparagin unter Verwendung eines Kleisters von 1,015 spez. Gewicht und Malzauszug verwandt.

	Verzuckerungsdauer $1^1/_2$ Stunden bei 50° C	Verzuckerungsdauer 12 Stunden bei 15° C
Asparagin auf 100 Theile Kleister	Gebildete Maltose in % der Trockensubstanz	Maltose in % der Trockensubstanz
0.0	16.4	22.3
0.01	23.4	65.4
0.02	32.6	66.6
0.03	37.8	66.4
0.04	58.2	66.17

Letztere Tabelle ist so zu verstehen, dass dieselben Gemische zuerst bei 50° gehalten und dann auf 15° heruntergekühlt 12 Stunden noch standen. Bei dieser niedrigeren Temperatur hatte auch das Asparagin gewirkt, aber die Menge desselben kaum einen Einfluss gehabt.

Von Thonerdesalzen wurde Chloraluminium, essigsaure und schwefelsaure Thonerde, Kali- und Ammoniak-Alaun versucht und bei allen eine günstige Wirkung gefunden, wie folgende für essigsaure Thonerde gefundene Zahlen zeigen.

Essigsaure Thonerde auf 100 g Kleister	Maltose in % der Trockensubstanz
0.0 g	7.31
0.025 „	31.62
0.05 „	59.72
0.1 „	61.30
0.2 „	61.93

Während man Asparagin und essigsaure Thonerde mit gleichem Erfolge dem Kleister oder dem Malzauszug zusetzen konnte, verhielten sich die Kali- und Ammoniak-Alaune nur günstig, wenn sie dem Kleister zugesetzt wurden. Versetzte man damit den Malzauszug, so wurde dessen diastatische Kraft zerstört.

Zusatz von Phosphorsäure zum Kleister befördert sichtlich die diastatische Wirkung; die günstigste Menge scheint 15 mg auf 100 g Kleister zu sein. Die Wirkung der freien Säure ist weniger regelmässig, sie hängt von Reinheit und Stärke der Säure und dem benutzten Wasser ab.

In einem Versuche mit 15 mg Phosphorsäure wurden 21,6 % Maltose auf 100 Stärke gewonnen, während ohne Zusatz nur 9,21 % erzielt wurden. Metaphosphorsäure wirkt ähnlich aber weniger energisch. Die Wirkung des Ammoniumphosphates zeigen die Zahlen auf folgender Seite.

Calciumphosphat $CaH_4(PO_4)_2$ wirkt ähnlich wie das Ammoniaksalz, nur ist die Wirkung von der Art der Anwendung abhängig. Man kann ohne Unterschied der Wirkung das Ammoniaksalz dem Malzauszug oder dem Kleister zusetzen, das Kalksalz darf man aber nur zum Kleister geben.

Zusatz auf 100 g Kleister	Maltose in $^0/_0$ der Trockensubstanz nach $1^1/_2$stündiger Verzuckerung bei 50°	nach 12stündiger Verzuckerung bei 15° C
0.0	6.1	14.2
0.02	12.0	14.2
0.025	17.2	68.0
0.05 (?)	24.3	68.0
0.05	36.2	68.0

Alle Versuche mit Kali- und Magnesiasalzen und mit Sulfaten haben negative Resultate ergeben, die Wirkung der erwähnten Maisrückstände der amerikanischen Glykose-Fabrik muss also theils der Gegenwart der Phosphorsäure und Thonerde theils der Gegenwart von Eiweisszersetzungsprodukten zugeschrieben werden. Diese Wirkungen chemischer Agentien auf die Diastase hören auf, wenn man sie in einen Kleister einführt, dessen Umwandlung schon weit fortgeschritten ist, auch dürfen dabei nur geringe Mengen Malzauszug verwendet werden. Die nach Lintner dargestellte reine Diastase ergab dieselben Resultate wie Malzauszug,

Man nimmt weiter an, dass ein Zusatz von bis 8 $^0/_0$ Kochsalz der Diastase günstig sei, während schon 0,4 $^0/_0$ kohlensaures Natron deren Wirkung aufhebe.

Verf. fand, dass käufliches Kochsalz aber nicht chemisch reines Chlornatrium eine günstige Wirkung ausübe. Kohlensaures Natron war nach folgenden Zahlen selbst bei geringen Mengen sehr nachtheilig:

Zusatz	Maltose in $^0/_0$ der Trockensubstanz
0 g	78.3
0,25 „	18.2

Hierbei war das Salz zum Kleister vor der Malzzugabe zugesetzt. In einem anderen Falle wurden zu je 2 cc Malzauszug verschiedene Mengen Soda jedesmal in 2 cc destillirten Wassers gelöst zugesetzt und die Mischung in je 100 cc Kleister von 1,015 spez. Gew. überführt; nach 12stündiger Einwirkung bei gewöhnlicher Temperatur ergab sich

Natriumcarbonat in 100 g Kleister	Maltose in $^0/_0$ der Trockensubstanz
0.0	53.3
0.001	52.6
0.005	44.2
0.01	32.0
0.02	17.55
0.05	3.10

Hieraus erhellt die Gefahr, welche Gegenwart von Soda für die Verzuckerung hat; man muss also beim Neutralisiren einer Maische für Maltosedarstellung sehr den Zusatz überschüssiger Alkalien vermeiden. (Nach Zeitschr. f. Spiritusindustrie).

Jegorow (390) erinnert daran, dass REYCHLER glaubte durch Behandeln von Kleber mit HCl, P_2O_5, Essigsäure, Ameisensäure und Milchsäure sowie einer Lösung von KH_2PO_4 bei 40-50° künstliche Diastase erhalten zu haben. LINTNER und ECKHARDT führten die erhöhte zuckerbildende Wirkung nur darauf zurück, dass durch mechanischen Einfluss der betreffenden Säuren die Zähigkeit des Klebers vermindert worden sei. In einer Reihe von Versuchen über die Wirkung des mehr oder minder fein vertheilten Klebers auf lösliche Stärke mit oder ohne Essigsäure oder KH_2PO_4 findet Verf. die Ansicht von LINTNER und ECKHARDT bestätigt. (Chem. Centralbl.)

Jegorow (389) giebt folgende Zusammensetzung für Weizendiastase: H = 6.78 %, C = 40.24, N = 4.7, S = 0.7, P = 1.45, Asche (K, Mg, Ca, P_2O_5) = 4.6 %. Berechnet auf aschefreie Diastate: H = 7.1, C = 42.18, N = 4.93, S = 0.74 %. Das Präparat war mit 30 % Alkohol aus Weizenmehl ausgezogen und mit absolutem Alkohol fraktionirt gefällt. Die Diastase reagirte schwach alkalisch, die Asche schwach sauer.

Im Anschluss daran hebt LJUBAWIN den Phosphorgehalt hervor, den er als in der Diastase gebunden annimmt. Da der Gehalt an C, H und S in der Diastase der Vertheilung der Elemente in den Nukleinen nahe kommt, dürfte die Bildung der Diastase aus letzteren anzunehmen sein. (Nach Wochenschr. f. Brauerei.)

Jentys (391) bemerkt zu der Arbeit von WORTMANN[1], dass die Bestimmung der in einem Augenblicke vorhandenen Diastasemenge keine Vorstellung über die enzymatische Funktion der Diastase geben kann, da eine sehr kleine fortlaufend erzeugte Diastasemenge grosse Mengen Stärke umsetzen kann. Dass WORTMANN in Auszügen aus Pflanzentheilen keine Diastase nachweisen konnte, kann daher kommen, dass darin Substanzen vorhanden sind, die die Lösung der Stärke durch Diastase hindern oder solche, die die Lösung der Diastase durch Wasser unmöglich machen (Gerbstoff). Verf. glaubt, dass die Stärke allgemein durch Diastase in Lösung übergeführt werde, dass man aber nicht immer die Diastase durch reines Wasser ausziehen könne. (Nach Wochenschr. f. Brauerei.)

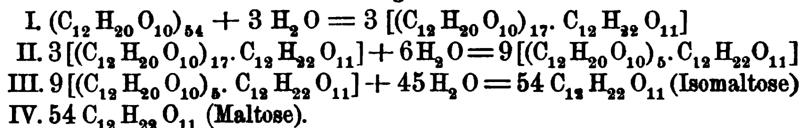
Lintner (392) giebt hier ausführlich die Resultate seiner Untersuchungen über den Abbau der Stärke, über die kurz schon früher[2] berichtet wurde. Wir tragen daraus hier Folgendes nach: Es wurden bei der Einwirkung der Diastase auf Stärke fünf Produkte erhalten: Amylo-, Erythro-, Achroodextrin, Isomaltose und Maltose. Zunächst zerfällt die Stärke in hochmolekulare Komponenten, von denen das Amylodextrin die einfachste und bei entsprechender Einwirkung fast ausschliesslich auftretende ist.

---

[1]) Koch's Jahresbericht I, 1890, p. 157.

[2]) Ebenda III, 1892, p. 254.

Durch Diastasewirkung zerfällt dann weiter Amylodextrin in Erythrodextrin, dieses geht in Achroodextrin über, welches sich in Isomaltose spaltet, worauf letztere sich in Maltose umlagert.



I. $(C_{12}H_{20}O_{10})_{54} + 3\,H_2O = 3\,[(C_{12}H_{20}O_{10})_{17} \cdot C_{12}H_{22}O_{11}]$
II. $3\,[(C_{12}H_{20}O_{10})_{17} \cdot C_{12}H_{22}O_{11}] + 6\,H_2O = 9\,[(C_{12}H_{20}O_{10})_{5} \cdot C_{12}H_{22}O_{11}]$
III. $9\,[(C_{12}H_{20}O_{10})_{5} \cdot C_{12}H_{22}O_{11}] + 45\,H_2O = 54\,C_{12}H_{22}O_{11}$ (Isomaltose)
IV. 54 $C_{12}H_{22}O_{11}$ (Maltose).

Diese vier Stadien treten nicht getrennt nacheinander auf, sondern sie laufen nebeneinander her. Man kann daher gleich im Anfang des diastatischen Prozesses Isomaltose und Maltose nachweisen.

Die wichtigsten Eigenschaften der genannten Umwandlungsprodukte sind folgende:

Amylodextrin $(C_{12}H_{20}O_{10})_{54}$ kann in Sphärokrystallen erhalten werden, reduzirt Fehling'sche Lösung nicht, giebt mit Jod tiefblaue Reaktion. Drehungsvermögen $\alpha_D = 196$.

Erythrodextrin $[(C_{12}H_{20}O_{10})_{17} \cdot C_{12}H_{22}O_{11}]$ bildet Sphärokrystalle, reduzirt schwach Fehling'sche Lösung, wird mit Jod rein rothbraun. $\alpha_D = 196$.

Achroodextrin $[(C_{12}H_{20}O_{10})_{5} \cdot C_{12}H_{22}O_{11}]$ bildet Sphärokrystalle, reduzirt Fehling'sche Lösung, reagirt mit Jod nicht. $\alpha_D = 192$. Schmeckt sehr schwach süss.

Isomaltose wahrscheinlich $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$, dürfte noch in Krystallform zu erhalten sein. Schmeckt intensiv süss. $\alpha_D = 140$. Reduzirt Fehling'sche Lösung. Gährt mit Hefe erheblich schwerer als Maltose. Bildet ein charakteristisches Osazon vom Schmelzpunkt 150-153°.

Bezüglich der Dextrin-Jodreaktion ist zu bemerken, dass auch Spuren von Amylodextrin in Erythrodextrinlösungen durch Blaufärbung nachzuweisen sind, wenn stark verdünntes Jodjodkalium tropfenweise zugesetzt wird.

Der Umstand, dass vor Maltose stets Isomaltose auftritt, legt die Vermuthung nahe, dass die Dextrine und die Stärke aus Isomaltosegruppen zusammengesetzt sind.

Bezüglich der Trennung und Reindarstellung der einzelnen Stärkederivate sei auf das Original verwiesen. (Nach Wochenschr. f. Brauerei.)

Vuilsteke (399) untersucht die Einwirkung von Hefe auf verschiedene Sorten Stärke oder stärkehaltige Rohmaterialien bei Gegenwart von Diastase in Form von Malzauszug. Die Fragestellung bietet mehr praktisches Interesse. (Nach Wochenschr. f. Brauerei.)

Dott (381) fand, dass es hinsichtlich der Wirkung von Diastase auf Stärke nicht ohne Einfluss ist, wie die Stärkelösung bereitet wird. Leicht aufgekochte Stärkelösung bedarf etwas weniger Diastase zur Verzuckerung. Zur Feststellung der Beendigung der Umwandlung ist die Jodreaktion am sichersten. (Chem. Centralbl.)

Cavazzani (380) beschreibt einen kurzen Bacillus aus einer Stärkekleisterkultur, der Kleister kräftig verzuckert und zwar — was Verf. auffällig erscheint — stärker bei Gegenwart von Eiweiss.

Maumus (393) zeigt, dass Bacillus anthracis Kartoffelstärke verzuckert und den Zucker verbraucht.

Röhmann (397) erhielt aus Stärke durch Einwirkung von Blutserumenzym neben Dextrose, die schon Bial angab, und löslicher Stärke je nach der Dauer der Einwirkung entweder mit Jod sich braun färbendes Dextringemisch „Porphyrodextrin" oder mit Jod sich nicht färbende Dextrine. Das sogenannte Erythrodextrin ist nicht ein Gemenge von löslicher Stärke und Achroodextrin, denn solche Gemenge färben sich mit Jod stets blau, sondern ein Gemenge von löslicher Stärke und Porphyrodextrin. Dieses Porphyrodextrin gährt mit Hefe wenig, das andere stark. (Chem. Centralbl.)

Béchamp (372) zeigt, dass ungekochtes Senegal-Gummi Stärkekleister bei 50 aber nicht bei 100° verzuckert. Bezüglich der Art wie Verf. dies zur Stütze seiner Mikrozymentheorie verwendet kann auf das Original verwiesen werden.

Effront (383) macht bei einer Diskussion interessante Mittheilungen über die Entdeckung der Glukase durch Cuisinier[1], die lange Zeit nicht durchdringen konnte, so dass z. B. das Patentamt in Berlin die Patentirung eines Verfahrens zur Herstellung von Glykose mit Hülfe von Maisglukase ablehnte, weil die Sachverständigen sich von der Existenz der Glukase nicht überzeugen konnten. Die gleiche Ansicht vertrat Lintner. Demgegenüber beutete die Industrie in Frankreich und Belgien die Entdeckung aus und producirte Glykose mit Hülfe von Glukase ohne Säure. So fabrizirte Cuisinier in Viarem bei Paris 1888 1000 Kilo dieses Zuckers täglich, im Jahr darauf 15000 Kilo und Effront wandte in Lembecq-lez-Hal das Verfahren 1889 bei einer Produktion von 3-5000 Kilo täglich an; der Zucker geht unter dem Namen Cerealose. Die neueren Arbeiten über Glukase fügen der von Cuisinier wenig Neues hinzu.

Weiter macht Effront Bemerkungen über Kjeldahl's Verfahren der Diastasebestimmung, welches er verwirft, weil die Gegenwart mancher Stoffe wie Asparagin, Aluminiumsalze, Phosphate die hydrolysirende Thätigkeit in diastasehaltigen Substanzen ganz erheblich steigert[2]. Kjeldahl schreibt vor die auf Diastasewirkung zu untersuchende Substanz mit einem Ueberschuss von Stärke so zusammenzubringen, dass höchstens 40 % hydrolysirt werden, aber die gefundene Zuckermenge sagt nach dem Obenerwähnten nichts über die wirklich vorhandene Diastasemenge aus. Ausserdem handelt es sich in der Praxis nicht um 40 % sondern um 80 % Ver-

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 250.

[2]) Vgl. p. 278.

zuckerung und die genannten Beimengungen wirken wohl im Anfang der Verzuckerung aber nicht mehr später, wenn die Dextrine anzugreifen sind. Man kann also nach KJELDAHL's Verfahren eine Diastaselösung gegenüber einer anderen ganz mit Unrecht für stärker halten. Auch den Resultaten von BROWN und MORRIS wirft Verf. daher Ungenauigkeiten vor. Um diastasehaltige Substanzen zu vergleichen empfiehlt er erst wenig Diastase und grossen Stärkeüberschuss, dann wenig Stärke und viel Diastase zu nehmen, im ersteren Falle auf 40, im zweiten Falle auf 80 % zu verzuckern und so das Resultat des ersten Versuchs zu kontrolliren.

Morris (396) prüfte die Angaben GÉDULD's[1] wonach Glukase in der Natur sehr weit verbreitet sein und in allen Geweben, wo Reservestärke nutzbar zu machen ist nach der Diastase wirken soll, wodurch die Stärke in einen Zucker mit kleinstem Molekül verwandelt wird, der aktiver und diffusibler als die dazwischen liegenden Produkte ist. Die Stärkewanderung von einem Gewebe in ein anderes findet in Form von Dextrose statt. Diese Angaben stehen im Widerspruch mit den Untersuchungen von BROWN und MORRIS über die Keimung der Gräser. Die Nachuntersuchung ergab, dass Mais und Maismalzauszug ein Ferment enthält, welches Maltose in Dextrose verwandelt, dass dieses Ferment nach dem Fällen sich nicht sehr leicht wieder löst und dass durch Abfiltriren desselben alle Wirkung aufgehoben wird.

Auf lösliche Stärke und Stärkekleister wirkt Glukase sehr schwach, während Mais- und Maismalzauszug Stärkekleister resp. Stärke rasch vollständig abbaut. Die Maltodextrine werden von Glukase hydrolysirt.

Bezüglich der Verbreitung der Glukase untersucht Verf. Mais, Gerste, Roggen, Hafer und Weizen sowie die zugehörigen Malze in ihrer Wirkung auf Maltose und fand nur im Mais und Maismalz im Gegensatz zu LINTNER[2] Glukase. Die Gegenwart beträchtlicher Mengen Dextrose in Kaltwasserauszügen verschiedener Samen ist nach Verf. vielmehr darauf zurückzuführen, dass während der Entwickelung oder Keimung des Kornes Dextrose durch Assimilation gebildet wird und nicht durch Einwirkung eines Fermentes auf die Stärke der reifen Samen. Hierauf ist auch zurückzuführen, dass JALOWETZ[2] und LINTNER in Würzen oder Auszügen aus glukasefreien Malzen Dextrose fanden.

Ebenso wie die Glukase des Mais lässt sich auch das von BROWN und HERON untersuchte Dünndarmferment (Proceed. Royal Society 1880) schwer aus dem Gewebe ausziehen; deshalb wirkt das Gewebe stärker als die Auszüge. Beide Fermente besitzen nur schwache Wirkung auf Stärkekleister und ihre Wirksamkeit wächst je weiter die Stärkeumwandlungs-

---

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 250.
[2]) Ebenda III, 1892, p. 255.

produkte abgebaut sind. Obwohl beide auf Maltose wirken, ist ihre Wirkung im Vergleich zur hydrolysirenden Kraft anderer Fermente gering.

Demnach ist die Glukase ein dem Mais eigenthümliches, in Gerste nicht vorkommendes und keine Rolle im Lebensprozesse der Pflanzen spielendes Ferment; unwahrscheinlich ist, dass die Glukase bei der Translokation der Kohlehydrate im Korne betheiligt ist. (Nach Wochenschr. f. Brauerei.)

Inulase, Trehalase, Emulsin.

Bourquelot (377) greift, angeregt durch Green's Auffindung der Inulase, des Fermentes, welches Inulin in Lävulose umwandelt, und durch seine eigenen Untersuchungen über Trehalase, auf seine eigene frühere Beobachtung zurück, wonach Aspergillus niger in Inulinlösungen ebenso üppig, wie in solchen von Glykose oder Rohrzucker wächst. Er findet, dass wie vermuthet, der Aspergillus neben anderen Fermenten Inulase producirt. Dieses Ferment ist von Invertin und Diastase, die Inulin nicht angreifen, verschieden und unterscheidet sich von der Trehalase dadurch, dass es durch eine Temperatur von 64° noch nicht geschädigt wird; dagegen konnte Verf. noch keine Momente finden, die die Inulase von der Maltase unterscheiden.

Die Wirkung der Inulase auf Inulin ist in wenig konzentrirten, heiss bereiteten Lösungen dieses Kohlehydrats sehr regelmässig. In einer 1,32-prozentigen Lösung von Inulin aus Atractylis gummifera ging die Einwirkung der Inulase folgendermassen von statten:

Zeit in Stunden	Drehung der Flüssigkeit	Temperatur der Flüssigkeit	Reduzirender Zucker %
0	— 1,06	17	0
12	— 2,03	17	0,871
36	— 2,43	17,5	1,283
64	— 2,50	19	1,371
84	— 2,53	19,5	1,403

Hieraus folgt, dass unter diesen Umständen dieses Inulin fast ganz in Lävulose übergeführt wird. Ob es sich daher etwas von denen unterscheidet, die nach Tanret unter dem Einfluss verdünnter Säuren auch etwas Glykose geben, bleibt dahingestellt.

Von praktischer Bedeutung hinsichtlich besserer Verwerthung der Topinambourknollen ist, dass das an sich von Hefe nicht vergährbare Inulin nach Ueberführung in Lävulose in alkoholische Gährung versetzt werden kann und dass dabei statt verdünnter Säure der inulaseliefernde Aspergillus verwendet werden kann (vgl. p. 163).

Bourquelot (378) geht von der Erfahrung aus, dass die Pilze erst bei Beginn der Sporenbildung Trehalose enthalten, die während der Spo-

renreifung verschwindet, während Glykose aber erst nachzuweisen ist, wenn Trehalose schon vorhanden ist und noch da ist, wenn Trehalose schon verschwunden ist. Demnach kann Glykose durch ein invertirendes Ferment aus Trehalose entstehen und Verf. findet wirklich ein solches, als er auf RAULIN'scher Flüssigkeit gewachsenen Aspergillus niger mit 95 $^0/_0$ Alkohol behandelt, trocknet, mit Wasser auszieht und mit Alkohol fällt. Das so dargestellte Ferment wandelt Trehalose in Dextrose um und zwar ganz in der gleichen Weise Trehalose aus Trehala und solche aus Pilzen, wonach der Zucker aus beiden Quellen identisch ist. Diastase aus Speichel, Hefeinvertin und Mandelemulsin wirken dagegen nicht auf Trehalose ein. Gleichzeitig wirkt das erhaltene Ferment aus Aspergillus auch auf Maltose ein; Verf. glaubt aber, dass der Pilz zwei Fermente, nämlich auch ein maltosebildendes mache, da von 53^0 ab die Wirkung des Fermentes auf Trehalose abnimmt und bei 63^0 ganz zerstört ist, während die Wirkung auf Maltose erst von 64-75^0 verschwindet. Das auf Trehalose wirkende Ferment nennt Verf. Trehalase.

Bourquelot (374) untersucht zur Aufklärung der noch unbekannten Ernährungsweise baumbewohnender Pilze ob dieselben glykosidspaltende Fermente bilden. Er hält von baum- oder holzbewohnenden Pilzen Auricularia sambucina Martius, Polyporus sulfureus Bull., Pholiota aegerita Fr., Collybia fusipes Bull., C. radicata Relh., Pholiota mutabilis Schaeff. und Claudopus variabilis Pers. in einer Atmosphäre von Aether oder Chloroform und benutzt die austretende Flüssigkeit oder er behandelt die Pilze mit Alkohol und zieht sie mit Wasser aus. Die erhaltenen Flüssigkeiten spalten alle Coniferin und Amygdalin, während die auf gleiche Weise aus erdbewohnenden Pilzen (Lactarius vellereus Fr., Russula cyanoxantha Schaeff. und delica Fr.) dargestellten Präparate diese Wirkung nicht zeigen. So ist es verständlich, wie baumbewohnende Pilze aus den in Rinde oder Cambium vorkommenden Glykosiden z. B. Populin und Salicin bei Populus und Salix, Phloridzin bei Pirus, Coniferin bei Pinus, sich assimilirbare Glykose abspalten können.

Bourquelot (375) giebt hier eine erweiterte Liste der baum- oder holzbewohnenden Pilze, in denen er Emulsin fand: Hydnum cirrhatum (Pers.), Trametes gibbosa (Pers.), Polyporus applanatus (Pers.), squamosus (Huds.), betulinus (Bull.), lacteus (Fr.), Fistulina hepatica (Huds.), Boletus parasiticus (Bull.), Lentinus ursinus (Fr.), Hypholoma fasciculare (Huds.), Pholiota aegerita (Fr.), mutabilis (Schaeff.), Claudopus variabilis (Pers.), Collybia fusipes (Bull.), radicata (Relh.), Phallus impudicus (Lin.) (auf Erde?), Hypoxylon coccineum (Bull.), Xylaria polymorpha (Pers.), Fuligo varians (Som.); dagegen fand er das Ferment nicht in folgenden erdbewohnenden Pilzen: Lactarius vellereus (Fr.), Russula cyanoxantha (Schaeff.), delica (Vaill.), Nyctalis asterophora (Fr.), Amanita vaginata (Bull.), Scleroderma

verrucosum (Bull.), Aleuria vesiculosa (Bull.) Peziza aurantia (Fl. dan.), Tuber aestivum (Vitt.).

Gérard (385) wies in dem aus Penicillium glaucum durch Fällen mit Alkohol isolirten Fermentgemisch Emulsin durch die Wirkung auf Amygdalin und auf Salicin nach.

Urase, Labferment.

Cambier (379) beschreibt einen 0,6 μ breiten endosporenfreien Bacillus, der in Bouillon kurze bewegliche Stäbchen, auf Gelatine kurze Fäden bildet. In Harnstoffgelatine, die er wie gewöhnliche Gelatine schnell verflüssigt, finden sich im Bodensatz die von Miquel auch bei anderen Harnstoffbakterien erwähnten kugeligen, zu zwei und zwei vereinten Krystalle, die in Wasser ganz unlöslich sich leicht in verdünnter Salpetersäure unter Kohlensäureentwickelung lösen. Aus dieser Lösung fällt Ammoniak einen weissen, Nitromolybdänsäure einen gelben Niederschlag. Demnach entstehen die Krystalle wohl durch langsames Fällen der in der Gelatine enthaltenen phosphor- und kohlensauren Kalksalze durch das entstehende Ammoniak. Verf. hat auch versucht die Geschwindigkeit der Verflüssigung durch diesen Bacillus zahlenmässig festzulegen und findet, dass die Verflüssigungszone einer Plattenkolonie ihren Durchmesser in der Sekunde um 0,8 μ vergrössert.

Zur Unterscheidung dieses Bacillus Schützenbergii β von dem von Miquel beschriebenen[1] B. Schützenbergii α führt Verf. unter anderen folgende physiologische Merkmale an:

B. Schützenbergii α	B. Schützenbergii β
Verflüssigt gewöhnliche Gelatine langsam, Harnstoffgelatine nicht.	Verflüssigt auch Harnstoffgelatine schnell.
Agarkulturen verbreiten sich stark, sind grünlich gefärbt.	Agarkulturen verbreiten sich wenig, sind nicht grünlich.
Maximale Menge des zersetzten Harnstoffs 14 g pro Liter (nie unter 13 g).	Maximale Harnstoffmenge 10,5 g (nie über 13 g).
Tödtungstemp.: 42°.	Tödtungstemp.: 47.5°.
Producirt viel Urase genügend um 35 g Harnstoff per Stunde zu zersetzen.	Producirt nur soviel Urase um 3 g Harnstoff per Stunde zu zersetzen.

Miquel (394) führt hier in seiner ausgezeichneten Monographie der zur Umwandlung des Harnstoffs in kohlensaures Ammon fähigen Mikro-

[1]) Koch's Jahresbericht II, 1891, p. 260.

organismen fort [1] und beschreibt zunächst den Urococcus van Tieghemi oder Urococcus α, die verbreitetste der hierhergehörigen Formen, die häufig in der Luft, den Wässern, gewöhnlich an den Wänden von unreinlichen Pissoirs und Abtritten sich findet. Hier kommen alle möglichen Harnstoffbakterien vor, oft aber überwiegen die Urobacillen. Die in Rede stehende Form erhält man am leichtesten mittelst 20 % Harnstoffgelatine, die mit 1000fach verdünntem Flusswasser oder filtrirtem und 10000fach verdünntem ammoniakalischem Urin aus Pissoirs inficirt wurde. Die Staubpartikel der Luft liefern fast nie aus nur einer Form bestehende Colonien. Die Colonien der Harnstoffbakterien verrathen sich auch hier in der Harnstoffgelatine durch einen Kranz von Krystallen. Urococcus van Tieghemi ist ein in der Grösse sehr wechselnder, endosporenfreier unbeweglicher Coccus, der auch in harnstofffreier Gelatine und ebensolchem Agar wächst, was viele Urobacillen nicht thun. Im Anschluss hieran beschreibt Verf. noch kurz einige gelegentlich gefundene Urococcen.

Er geht dann über zu dem ebenfalls häufigen Urococcus Dowdeswelli als Vertreter eines Harnstoff zersetzenden Coccus mit ovalen Zellen. Wie dieser auf Peptongelatine etc. gelbe Colonien bildet, kommen auch noch andere Harnstoff-Coccen häufig in der Natur vor, die gelbe bis fast rothe Colonien bilden; Verf. beschreibt einige von diesen kurz. Den Schluss dieser mustergiltigen Monographie der einzelnen Harnstoffbakterien, deren im Ganzen ungefähr 60 verschiedene Formen dem Verf. bekannt sind, macht eine Sarcina die Urosarcina Hansenii, die in Luft und Wasser, sonst an Orten, die reich an organischen Stoffen sind, in reichgedüngtem Boden, im Wandbeleg von Küchenableitungsröhren häufig vorkommt. Bei den meisten der untersuchten Formen macht Verf. ausführliche Angaben über Intensität der Zersetzung, Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperaturen, gegen Antiseptika etc., worauf wir bei der Fülle des Materiales hier leider nicht näher eingehen können. Erwähnt sei nur noch die theoretisch wichtige Bemerkung, dass bei Urosarcina Hansenii mit dem Fortschreiten der Harnstoffzersetzung das Verhältniss der umgewandelten Harnstoffmenge zum Gewicht der vorhandenen Urosarcina-Zellen sinkt, woraus Verf. folgert, dass die vegetative Thätigkeit des Mikroorganismus der fermentativen nicht proportional ist. Es veranlasst ihn dies zu der Bemerkung, dass auch bei der alkoholischen Gährung, wo ähnliche Veränderungen jenes Verhältnisses gefunden würden, ein Ferment wohl die Zuckerumsetzung bewirke.

Der Verf. giebt dann nochmals eine tabellarische Zusammenstellung der Eigenschaften der 17 von ihm näher beschriebenen Harnstoffbakterien; es ist dies ein typisches Beispiel, wie sich Verf. die Unterscheidung ähnlicher Bakterienformen unter Benutzung der physiologischen Eigenschaften derselben denkt und deshalb von hervorragendem allgemeinen Interesse:

[1]) Koch's Jahresbericht I, 1890, p. 176; II, 1891, p. 259.

Bestimmungstabelle I.

Urobacillus.

1. Arten, die mehr als 1 g Harnstoff per Stunde zersetzen:
Zersetzt 3 g Harnstoff per Stunde; lässt sich bei 40° kultiviren. Seine Sporen halten 90° aus. Dicke, bewegliche Glieder, wächst nicht in Bouillon und neutraler Bouillongelatine. Urobacillus Pasteurii
Zersetzt 1,5 g Harnstoff p. Stunde; lässt sich bei 40° kultiviren. Sporen halten 90° aus, dünne bewegliche Glieder, wächst nicht in Bouillon etc. Urobacillus Duclauxii
2. Arten, die weniger als 1 g per Stunde und wenigstens 5 g per Tag umsetzen.
Zersetzt 8 g Harnstoff in 24 Stunden. Wächst bei 40°. Sporen halten 90° aus. Dicke, bewegliche, schwer in neutr. Peptongelatine und Bouillon kultivirbare Glieder. Sonderbare Involutionsformen. Urobacillus Maddoxii
Zersetzt 6 g in 24 Stunden; wächst nicht bei 40°. Die Sporen halten 90° aus. Bewegliche kurze Glieder in Flüssigkeiten, lange Fäden auf festem Substrat. Wächst leicht in Bouillon und auf Gelatine, die er langsam verflüssigt. Urobacillus Freudenreichii
Zersetzt 5 g per Tag. Wächst nicht bei 40°. Sporen halten 90° aus. Dicke, kurze, unbewegliche Glieder, wachsen leicht in neutr. Bouillon und Peptongelatine, die nicht verflüssigt wird. Urobacillus δ
3. Langsam oder unvollständig arbeitende Arten, die weniger als 5 g per Tag zersetzen:
Setzt höchstens 14 g Harnstoff per Liter um. Stirbt bei 45° ab: kurze, sehr kleine, sehr bewegliche, sehr leicht in den Nährsubstraten wachsende, Peptongelatine schnell verflüssigende Glieder. Urobacillus Schützenbergii
Zersetzt 0,5 g in 24 Stunden. Sporen halten 90° aus. Dicke, unbewegliche Glieder, manchmal Fäden wächst in allen neutralen Substraten und verflüssigt Gelatine nicht. Urobacillus ε

Bestimmungstabelle II.

Urococcus.

1. Arten, die 2-5 g Harnstoff in 24 Stunden zersetzen:
A. Kugelige Formen:
Zersetzt 5 g per Tag; 1 μ dicke Zellen, wächst leicht in Nährsubstraten, verflüssigt Gelatine nicht, Colonien erst weiss dann gelb. Urococcus van Tieghemi
Zersetzt 2 g per Tag; schöne weisse Colonien auf den meisten Substraten, verflüssigt leicht. Urococcus γ
B. Ovale Form:
Zersetzt 5 g per Tag, leicht wachsende gelbliche Colonien, verflüssigt nicht. Urococcus Dowdeswelli
C. Würfelförmig angeordnete Coccen:
Zersetzt 2 g per Tag; wächst auf den meisten Substraten in gelben nicht verflüssigenden Colonien. Flüssigkeiten werden nicht getrübt.. Urosarcina Hansenii
2. Arten, die 1-2 g in 24 Stunden zersetzen:
Zersetzt 1,5 g per Tag, kugelige Zellen, die auf halbfesten Medien in grauen schleimigen Ueberzügen wachsen, verflüssigen gewöhnliche Gelatine nicht. Urococcus μ
Zersetzt etwas mehr als 1 g per Tag. Kugelige zu Haufen gelagerte Zellen, wachsen gut in allen Substraten, bilden chromgelbe Bodensätze und Ueberzüge, verflüssigen nicht. Urococcus ε
Zersetzt 1 g per Tag; kugelige Zellen in Ketten, weisse, langsam verflüssigende Colonien. Urococcus β
3. Arten, die weniger als 1 g Harnstoff in 24 Stunden zersetzen:
Zersetzt ungefähr 1 g per Tag; kugelige, 1,5 μ breite Zellen in Schichten; hell ockergelbe Colonien auf allen festen Substraten, verflüssigt Peptongelatine sehr leicht zu schleimiger Flüssigkeit. Urococcus δ
Zersetzt 0,6-0,7 g per Tag und unvollkommen. 1 μ breite kugelige Zellen, wachsen sehr schwer in den meisten Substraten und verflüssigen nicht. Urococcus ν
Zersetzt etwa 0,5 g per Tag; 1,5 μ breite kugelige Zellen, die auf festen Substraten röthlichweisse Schichten bilden und nicht verflüssigen. Urococcus ϱ.

2 Tafeln vervollständigen im Original diese Tabellen.

Es sei wiederholt darauf hingewiesen, dass die Colonien der Harnstoffbakterien sich in halbfesten Substraten mit 2 % Harnstoff durch eine Aureole von Krystallen verrathen, von denen jeder aus zwei mit einander verbundenen Kugeln besteht. Diese Krystalle sind in kaltem und heissem Wasser unlöslich, werden von heissen kaustischen Alkalien nicht angegriffen, sind in kräftigen Säuren unter lebhafter Kohlensäureentwickelung leicht löslich. Sie bestehen aus Kohlensäure, Phosphorsäure und Kalk und entstehen unter dem Einfluss des kohlensauren Ammoniaks auf Kosten der in der Gelatine enthaltenen Erdalkalien. Sehr langsam arbeitende Harnstoffbakterien bilden diese Krystalle nicht. Colonien, die solche Krystalle zeigen, kann man dann in künstlichen Harn (10 g Pepton Chapoteau, 0,05 g Holzasche, 20 g Harnstoff und 1000 Wasser, nach dem Kochen filtrirt) setzen. Meist sind aber diese Kulturen noch nicht rein und müssen erst noch mehrmals auf Platten gebracht werden, bis die Kultur nach mikroskopischer Beobachtung und nach der Regelmässigkeit des Ganges der Harnstoffzersetzung rein erscheint. Letzteres ist aber kein ganz sicheres Zeichen der Reinheit.

Der Verf. macht weiter statistische Angaben über den Gehalt der Luft mitten in Paris an Harnstoffbakterien auf Grund Jahre lang täglich durchgeführter Analysen. Er fand z. B. 1891 im Cubikmeter Luft an Harnstoffbakterien im

Winter	115
Frühjahr	197
Sommer	202
Herbst	90
Mittel	151

Unter diesen fielen auf

Mikrokokken	58 %	Mikrokokken und Sarcinen	62 %
Bacillen	31	Bacillen	28
Sarcinen	11	Schimmelpilze	10

Andererseits fand er im Cubikcentimeter des sehr reinen Flusswassers der Vanne im Jahresmittel 8,5-11, in der Seine oberhalb Paris 318, in der Seine in Paris 1222, in den Sammelanlagen von Strassenabwässern (? eaux d'égouts) 702 500, in Spülwasser (? eaux de vidange) 4 100 000 Harnstoffbakterien. Auf 100 Bakterien überhaupt kamen an Harnstoffbakterien im Wasser der Seine oberhalb Paris 1,03, in der Seine in Paris 2,04, in den unreinen Abwässern 5,26 und 6,66; der relative Reichthum der Wässer an Harnstofffermenten wächst also mit ihrer Unreinheit. Der Form nach vertheilen sich die Harnstoffbakterien der Wässer wie folgt:

Mikrokokken	58 %
Bacillen	51 „
Sarcinen	1 „
Schimmelpilze	0 „

Im Ackerboden finden sich 1-2 % der Bakterien an harnstoffzersetzenden Formen; bis zu 10 cm Tiefe überwiegen die Coccen, später bis zu 2 Meter Tiefe überwiegen die Bacillen. In dem Dünger der Kuhställe finden sich bis 15 % Harnstoffbakterien. Im Allgemeinen finden sich diese Formen also genügend verbreitet, um überall die Harnstoffzersetzung zu sichern; einige von ihnen scheinen auch noch die sehr wichtige Fähigkeit zu haben, das Eiweissmolekül durch Hydratation tief zu spalten; dies bleibt indessen zu untersuchen. Der Verf. kommt dann weiter wieder auf die Urase, das von den Harnstoffbakterien producirte Ferment der Harnstoffzersetzung zu sprechen[1]. Musculus hatte dieses 1876 im Harn von Kranken nachgewiesen, aber Niemand nach ihm konnte dies bestätigen. Verf. machte selbst zehn Jahre fruchtlose Versuche das Ferment in Harnstoffbakterienkulturen nachzuweisen, bis es ihm endlich gelang. Er bespricht hier nun das zum Ziele führende Verfahren. Die Gründe der früheren Misserfolge bei Darstellung der Urase liegen darin, dass dieselbe sehr leicht oxydirbar ist, dass sie von allen Fällungsmitteln (Alkohol, Kalksalze) ganz oder grösstentheils zerstört wird und dass sie kaum zu filtriren und zu concentriren ist und man daher zur Darstellung nur an Urase sehr reiche Flüssigkeiten benutzen muss.

Verf. kultivirt die Harnstoffbakterien zur Darstellung der Urase in einem Gefäss, welches gestattet mit Hülfe einer Vorlage zeitweilig Proben zur Bestimmung der gebildeten Urasemenge zu entnehmen. Als Kulturflüssigkeit wird gewöhnliche 2 % Peptonbouillon verwendet und bei solchen Formen, wo es nöthig ist, etwas kohlensaures Ammon zugesetzt; eine mässige Luftmenge, die bei kräftigen Bakterien 20 Liter per Tag nicht übersteigen darf, wird dann durch die Kultur gesaugt. Wenn in 20 cm herausgenommener mit der gleichen Menge Wasser verdünnter Kulturflüssigkeit so viel Urase gefunden wird, dass sie per Stunde und Liter 40-50 g Harnstoff umwandelt, so wird Leuchtgas durch die Kultur geleitet und diese in Berührung mit diesem Gas stehen gelassen. Als Maximum der Uraseanhäufung glaubt Verf. eine Menge angeben zu können, die im Liter Peptonbouillon in 3 Stunden 5-600 g Harnstoff hydratisirt. Wenn es sich um den Nachweis sehr kleiner Urasemengen handelt, wo man die Bakterien nicht von der Untersuchungsflüssigkeit trennen kann, genügt es die Temperatur der Flüssigkeit über 48° zu halten, weil die Bakterien über 46° Harnstoff nicht zersetzen.

[1]) Koch's Jahresbericht I, 1890, p. 176; II, 1891, p. 259.

Beim Filtriren durch Porzellan wird die Urase grösstentheils oxydirt und von der Filtermasse festgehalten, so dass sie im Filtrat häufig nicht nachzuweisen ist. Man filtrirt daher praktisch in Leuchtgasatmosphäre.

Ueber die Wirkung verschiedener Umstände, welche die Urasethätigkeit beeinflussen, wie Temperatur und Harnstoffmenge, will Verf. später berichten und hier zunächst über den allgemeinen Gang der Reaktion reden. Es zeigt sich zunächst, dass die Reaktion am Anfang kräftig einsetzt, dann ein Maximum erreicht und weiter wieder viel schwächer wird. Der Verf. will dies auf die kaustische Wirkung des entstehenden kohlensauren Ammoniums auf die Urasen erklären. Dabei unterstützt ein Ueberschuss von Harnstoff das kohlensaure Ammon in seiner Wirkung und deshalb arbeitet die Urase in harnstoffreicheren Lösungen unter Umständen schwächer. Andererseits wird bei schwächerem Harnstoffgehalt das Maximum der Urasewirkung in den Lösungen, die eine mittlere Menge Harnstoff enthalten (4-8 $^0/_0$ in einigen im Original näher aufgeführten Versuchen) erreicht. Die günstigste Temperatur für die Urasewirkung liegt in der Nähe von 50^0; wenn bei etwas höheren Temperaturen die Reaktion auch kräftiger einsetzt, so wird sie doch bald schwächer, weil die Urase bei diesen Temperaturen schon theilweise zerstört wird; bei 70^0 wird die Urase in 20-30 Minuten ganz zerstört und die bei dieser Temperatur beobachtete Wirkung (s. folgende Tabelle) ist während des Anwärmens der Versuchsflüssigkeit bei niederen Temperaturen vor sich gegangen. Die Zahlen der folgenden Tabelle bedeuten die g Harnstoff, welche per Liter zersetzt sind;

	20^0	30^0	40^0	50^0	60^0	70^0
Nach 1 Stunde	2,1	2,8	3,6	4,1	6,6	3,4
„ 2 „	3,2	4,3	6,8	10,0	7,4	3,4
„ 3 „	4,3	5,7	10,0	12,1	7,4	3,4

Gorini (386) berichtet über einige weitere[1] Eigenschaften des Labfermentes des B. prodigiosus.

1. Es bildet sich nicht nur in Milch und milchzuckerhaltiger Bouillon, wie Conn[2] für das Labferment verschiedener unbenannter Bakterien fand.

2. Es wird von einem säurebildenden Bakterium producirt, während die sonst bekannten, laberzeugenden Bacterien die Milch bei neutraler oder schwach alkalischer Reaction koaguliren.

3. Das Prodigiosus-Labferment wirkt wie Kälbermagenlab weit besser und schneller bei 37 wie bei 20^0 und wird durch Alkalien gehemmt; es ist wie jenes durch Wasser und nicht durch Alkohol extrahirbar. Vom Kälber-

---

1) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 182.
2) Ebenda p. 259.

magenlab und allen anderen Bakterienlabfermenten unterscheidet es sich dadurch, dass es erst durch halbstündiges Erhitzen auf 100° zerstört wird; Verf. glaubt, dass es kein gegen hohe Temperatur widerstandsfähigeres Enzym giebt.

Es ist kein Protein; es lässt sich nach der BLUMENTHAL-CONN'schen Methode leicht von dem proteolytischen Fermente trennen. Es wird bei 20° weit reichlicher als bei 37° C erzeugt und in peptonhaltiger Bouillon reichlicher als in peptonfreier. Umgekehrt verhält sich das proteolytische Ferment des B. prodigiosus und anderer verflüssigender Bakterien.

Freudenreich (384) prüft die Angabe von ARTHUS und HUBER[1], wonach durch Zusatz von 1 % Fluornatrium die Fermente nicht, wohl aber die Gährungsorganismen in ihrer Thätigkeit gelähmt werden. Er untersuchte speciell die Einwirkung jenes Salzes auf Lab im Hinblick auf die Käsereifung. Er fügte zu je 50 cc Milch 0,1-2 % Fluornatrium und 2 cc einer Lablösung hergestellt aus einer HANSEN'schen Tablette und 500 cc Wasser. Bei 35° wurde die Controlmilch in 10 Minuten dick, die mit 0,1 % Fluornatrium in 19 Minuten, die übrigen auch nach 48 Stunden nicht. Bakterienentwickelung zeigte sich in den mit mehr als 0,2 % Fluornatrium versetzten Flaschen nicht, wohl aber als mit solcher Milch Bouillon inficirt wurde; nur die mit 2 % Fluornatrium versetzte Milch war wirklich steril. Die Angaben von ARTHUS und HUBER sind in Bezug auf Lab also nicht richtig.

---

[1]) Koch's Jahresbericht III, 1892, p. 65.

Autoren-Register.

(Ein Stern hinter der Seitenzahl bedeutet, dass die betreffende Arbeit dem Verfasser unzugänglich war und daher nur der Titel derselben aufgeführt wurde.)

Sach-Register.

Berichtigung.

S. 190 gehört das erste Wort der Zeile 14 von unten (acide) an den Anfang der zunächst darunter stehenden Zeile.

S. 193 erste Zeile bitte zu lesen Sieber statt Lieber.